

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**ANÁLISE DE RESÍDUO, ATIVIDADE DE ENZIMAS
ANTIOXIDANTES E QUALIDADE DE FRUTOS ARMAZENADOS
DE LARANJA ‘NATAL’ DEVIDO À APLICAÇÃO DE
PIRACLOSTROBINA ANTES E APÓS A COLHEITA**

SOFIA DOMICIANO

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para
obtenção do título de Mestre em Agronomia
(Horticultura)

BOTUCATU - SP

Junho – 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**ANÁLISE DE RESÍDUO, ATIVIDADE DE ENZIMAS
ANTIOXIDANTES E QUALIDADE DE FRUTOS ARMAZENADOS
DE LARANJA ‘NATAL’ DEVIDO À APLICAÇÃO DE
PIRACLOSTROBINA ANTES E APÓS A COLHEITA**

SOFIA DOMICIANO

Orientador: Prof. Dr. João Domingos Rodrigues

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Horticultura).

BOTUCATU - SP

Junho - 2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO – DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO – UNESP – FCA – LAGEADO – BOTUCATU (SP)

D669a Domiciano, Sofia, 1988-
Análise de resíduo, atividade de enzimas antioxidantes e qualidade de frutos armazenados de laranja 'Natal' devido à aplicação de piraclostrobina antes e após a colheita / Sofia Domiciano. – Botucatu : [s.n.], 2016 x, 95 f. : fots. color., ils.color., grafs. color., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu, 2016
Orientador: João Domingos Rodrigues
Inclui bibliografia

1. Laranja - Pós-colheita. 2. Laranja - Conservação. 3. Etileno. 4. Peroxidação. 5. Fungicidas. I. Rodrigues, João Domingos. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônomicas. III. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "ANÁLISE DE RESÍDUO, ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES E QUALIDADE DE FRUTOS ARMAZENADOS DE LARANJA 'NATAL', DEVIDO À APLICAÇÃO DE PIRACLOSTROBINA ANTES E APÓS A COLHEITA"

AUTORA: SOFIA DOMICIANO

ORIENTADOR: JOÃO DOMINGOS RODRIGUES

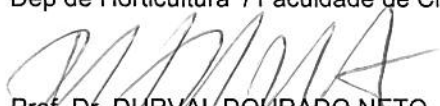
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em AGRONOMIA (HORTICULTURA), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES
Departamento de Botânica / Instituto de Biociências de Botucatu



Profa. Dra. SARITA LEONEL
Dep de Horticultura / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu



Prof. Dr. DURVAL DOURADO NETO
Produção Vegetal / Escola Superior de Agricultura

Botucatu, 29 de junho de 2016.

Aos meus pais, Eriovaldo e Maria Aparecida; meu irmão, Rafael; e ao meu namorado, Bruno, por compartilharem desse sonho e estarem sempre ao meu lado me dando forças para concluir mais esta etapa na minha vida.

Dedico.

Agradecimentos

Primeiramente a DEUS, sempre! Pelas providências em minha vida.

Aos meus pais Eriovaldo e Maria Aparecida e meu irmão Rafael. Pelo simples motivo de dedicarem suas vidas à nossa família e por serem minha referência.

Ao meu namorado, Bruno, por todo companheirismo, paciência e amor.

À minha família, pelo amor que sinto em cada olhar e sorriso, pelas orações, pelo carinho. Por cada abraço apertado.

Ao meu orientador Prof. Dr. João Domingos Rodrigues, por todo apoio, amizade, ensinamento e confiança, assim como à Prof.^a Dra. Elizabeth Orika Ono, por proporcionarem meu crescimento pessoal, profissional e a realização deste trabalho.

Aos meus amigos Marlon Jocimar e Vanessa Polonio, pela paciência, pelos ensinamentos e principalmente pelo carinho e amor que sinto.

Aos meus amigos de Pós-Graduação, que estiveram comigo nesse trajeto, por todos os bons momentos que vivemos e por todas as experiências compartilhadas. Em especial, Ana Claudia Macedo, Amanda Amaro, Aline Mendes, Carla Verônica e Luan Ormond por toda disponibilidade e contribuição.

Aos funcionários do Departamento de Horticultura, especialmente à Márcia Garcia e Edson por todo ensinamento, ajuda e apoio.

Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Horticultura), pelos ensinamentos fundamentais para a minha formação em especial à Prf^a Dr^a Regina Evangelista pelo empréstimo do laboratório de Pós-Colheita e por toda colaboração.

À Capes pela bolsa de estudos concedida para a realização desse trabalho e a FCA/UNESP, Campus de Botucatu

Muito Obrigada!

"O saber a gente aprende com os mestres e os livros.

A sabedoria se aprende é com a vida e com os humildes.

Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina"

Cora Coralina

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	VII
LISTA DE TABELAS.....	IX
RESUMO	1
SUMMARY	3
1. INTRODUÇÃO.....	4
2. OBJETIVOS.....	6
2.1 Objetivo geral	6
2.2 Objetivos específicos	6
3. REVISÃO DE LITERATURA	7
3.1 Histórico e importância econômica dos citros	7
3.2 Fisiologia pós-colheita de frutos cítricos	9
3.3 Piraclostrobina	13
3.4 Complexo oxidante e antioxidante	15
3.4.2 Enzimas antioxidantes	16
3.4.2.1 Superóxido dismutase	17
3.4.2.2 Catalase	17
3.4.2.3 Peroxidase	18
4. MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1 Armazenamento em condições ambiente	21
4.2 Armazenamento refrigerado	22
4.3 Análises.....	23
4.3.1 Análises físico-químicas	23
4.3.2 Análises bioquímicas	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1 Análises físico-químicas	30
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	61
7. CONCLUSÕES.....	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
ANEXO.....	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Aplicação pré-colheita de piraclostrobina em frutos de laranja ‘Natal’ .	21
Figura 2. Aplicação pós-colheita de piraclostrobina em frutos de laranja ‘Natal’.	21
Figura 3. Frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias	22
Figura 4. Frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura (8 ± 1 °C e 92 ± 2% de UR) controlada por 36 dias	23
Figura 5. Determinação do volume de suco nos frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina.	24
Figura 6. Determinação da perda de massa em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina.	25
Figura 7. Preparo da amostra para determinação de ácido ascórbico em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina.	25
Figura 8. Preparo da amostra para realização das análises bioquímica.	26
Figura 9. Amostras para análise de resíduo dos produtos aplicados.	28
Figura 10. Valores de rendimento de suco (%) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias.	32
Figura 11. Valores médios de sólidos solúveis em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em: A) temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e; B) sob refrigeração (8 ± 1 °C e 92 ± 2% de UR) por 36 dias.	34
Figura 12. Valores médios de acidez titulável (mL de ácido cítrico 100 mL ⁻¹ suco) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados sob refrigeração (8 ± 1 °C e 92 ± 2% de UR) por 36 dias.	37
Figura 13. Valores de pH em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em: A) temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e; B) sob refrigeração (8 ± 1 °C e 92 ± 2% de UR) por 36 dias.	40
Figura 14. Valores de índice tecnológico em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias.	41

Figura 15. Valores de índice tecnológico em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados sob refrigeração (8 ± 1 °C e $92 \pm 2\%$ de UR) por 36 dias. ..	43
Figura 16. Valores de rendimento industrial em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em: A) temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e; B) sob refrigeração por 36 dias..	44
Figura 17. Valores de perda de massa (%) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias.....	46
Figura 18. Valores de ácido ascórbico ($\text{mg } 100 \text{ mL}^{-1}$) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em: A) temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e; B) sob refrigeração (8 ± 1 °C e $92 \pm 2\%$ de UR) por 36 dias.....	49
Figura 19. Peroxidação lipídica (TBARS, nmol g^{-1} de matéria fresca) e atividade da superóxido dismutase (SOD, U mg^{-1} de proteína) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias.....	57
Figura 20. Atividade da catalase ($\mu\text{Kat } \mu\text{g}^{-1}$ de proteína) e peroxidase (POD, $\mu\text{mol de purpurogalina min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de índices de maturação em frutos cítricos em São Paulo.	12
Tabela 2. Valores de rendimento de suco (%) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e sob refrigeração (8 ± 1 °C e $92 \pm 2\%$ de UR) por 36 dias.	31
Tabela 3. Valores de sólidos solúveis em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e sob refrigeração (8 ± 1 °C e $92 \pm 2\%$ de UR) por 36 dias.	34
Tabela 4. Valores de acidez titulável em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e sob refrigeração (8 ± 1 °C e $92 \pm 2\%$ de UR) por 36 dias.	36
Tabela 5. Valores de ratio em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e sob refrigeração (8 ± 1 °C e $92 \pm 2\%$ de UR) por 36 dias.	38
Tabela 6. Valores de pH em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e sob refrigeração (8 ± 1 °C e $92 \pm 2\%$ de UR) por 36 dias.	39
Tabela 7. Valores de índice tecnológico em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados sob refrigeração (8 ± 1 °C e $92 \pm 2\%$ de UR) por 36 dias ...	42
Tabela 8. Valores de rendimento industrial em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e sob refrigeração por 36 dias	44
Tabela 9. Valores de perda de massa (%) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias.	47
Tabela 10. Valores de ácido ascórbico ($\text{mg } 100 \text{ mL}^{-1}$) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e sob refrigeração (8 ± 1 °C e $92 \pm 2\%$ de UR) por 36 dias.	50

Tabela 11. Peroxidação lipídica (TBARS, nmol g ⁻¹ de matéria fresca) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e controlada (8 ± 1 °C e 92 ± 2% de UR) por 36 dias.....	53
Tabela 12. Atividade de superóxido dismutase (SOD (U mg ⁻¹ de proteína) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e controlada (8 ± 1 °C e 92 ± 2% de UR) por 36 dias....	54
Tabela 13. Atividade da catalase (μKat μg ⁻¹ de proteína) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e controlada (8 ± 1 °C e 92 ± 2% de UR) por 36 dias.....	55
Tabela 14. Atividade da peroxidase (POD, μmol de purpurogalina min ⁻¹ mg ⁻¹ de proteína) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e controlada (8 ± 1 °C e 92 ± 2% de UR) por 36 dias.	56
Tabela 15. Quantidade total de resíduos de piraclostrobina em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e sob refrigeração (8 ± 1 °C e 92 ± 2% de UR) por 36 dias.....	60

RESUMO

O Brasil destaca-se mundialmente na produção de citros, sendo a laranja a principal espécie cítrica cultivada; no entanto, a fruta brasileira ainda apresenta carências quanto à qualidade. O objetivo deste trabalho foi avaliar a fisiologia e qualidade pós-colheita de frutos de laranja ‘Natal’ tratados com o fungicida piraclostrobina e armazenados sob condições ambiente e de refrigeração. Os tratamentos foram constituídos pela aplicação de duas doses ($D1 = 0,010 \text{ ml L}^{-1}$ e $D2 = 0,015 \text{ ml L}^{-1}$) do fungicida em pré e em pós-colheita e pela combinação de duas épocas de aplicação. Foram avaliadas as seguintes características físico-químicas: rendimento de suco; teor de ácido ascórbico (AA); pH; teor de sólidos solúveis (SS); acidez titulável (AT); relação SS/AT (*ratio*); perda de massa; índice tecnológico (IT) e rendimento industrial (RI). Também foi avaliada a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD) e a peroxidação lipídica, além da quantidade de resíduos do produto nos frutos. Foi empregado para o estudo o delineamento experimental blocos casualizados, com parcelas subdivididas no tempo, com oito tratamentos e quatro repetições. A aplicação de piraclostrobina em pré-colheita, nas doses testadas, manifestou efeito positivo sobre a qualidade dos frutos nas duas condições testadas de armazenamento, aumentando o rendimento de suco, índice tecnológico, rendimento industrial e o teor de sólidos solúveis dos frutos em até 2° Brix. O teor de ácido ascórbico nos frutos manteve-se constante

durante todo o período de armazenamento, além de diminuir a perda de massa dos mesmos. Todos os tratamentos testados neste trabalho apresentaram valores residuais de piraclostrobina inferiores ao limite máximo de resíduo (LMR) estabelecido pela ANVISA.

Palavras-chave: *Citrus sinensis*; etileno, estrobirulina, conservação pós-colheita, peroxidação lipídica, rendimento industrial.

ANALYSIS OF RESIDUE, ENZYMES ACTIVITY ANTIOXIDANT AND QUALITY OF ORANGE FRUITS STORED 'NATAL' THROUGH THE APPLICATION PYRACLOSTROBIN BEFORE AND AFTER HARVEST Botucatu, 2016. 95 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: SOFIA DOMICIANO

Adviser: JOÃO DOMINGOS RODRIGUES

SUMMARY

The Brazil stands out worldwide in the production of citrus and orange citrus the primary cultivated species, however, the quality of Brazilian fruit still presents shortcomings regarding the quality. The objective of this study was to evaluate the postharvest quality of 'Natal' orange fruit treated with pyraclostrobin fungicide and stored under ambient conditions and cooling. The treatments were a combination of two doses ($D1 = 0,010\text{mL L}^{-1}$ $D2 = 0,015\text{mL L}^{-1}$) of the fungicide in pre and post-harvest and the combination of the two application periods. The following physicochemical characteristics were evaluated: juice yield; ascorbic acid (AA); pH; soluble solids (SS); titratable acidity (TA); SS / TA ratio (ratio); mass loss; technological index (IT) and industrial output (RI). Also evaluated the activity of antioxidant enzymes superóxidodismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD) and lipid peroxidation, besides the amount of waste product in fruit. It was used to study the experimental design randomized blocks in split plot, with eight treatments and four replications. The application of pyraclostrobin in pre-harvest, at the tested doses, expressed positive effect on fruit quality in both conditions tested storage, increasing the juice yield, technological index, industrial output and the soluble solids content of fruit within 2 ° Brix. The ascorbic acid content in fruits remained constant throughout the storage period, in addition to reducing the weight loss in them. All treatments tested in this study showed residual values of pyraclostrobin below the maximum residue limit (MRL) established by ANVISA.

Keywords: Citrus sinensis; ethylene, estrobirulina , post- harvest storage , lipid peroxidation , industrial yield .

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é atualmente um dos maiores produtores mundiais de frutas *in natura*, sendo o primeiro entre os principais países produtores e exportadores de laranja. A região Sudeste destaca-se como a de maior importância do país, com 81,1% da produção nacional, seguida pelo Nordeste com 9,8% e Sul com 6,3%; sendo as regiões menos expressivas o Centro-Oeste e o Norte (IBGE, 2013). Contudo, atualmente, atingem-se altos valores de perdas relacionadas à conservação e armazenamento desses frutos pós-colheita. Essas perdas, causadas por podridão nos armazéns, nas embalagens, redução de massa, danos sofridos no manuseio de carga e descarga e deterioração da aparência e sabor, somadas podem chegar a 50% (TODISCO, 2012).

Sabe-se que somente a alta qualidade de frutos produzidos, livres de pragas, doenças e de distúrbios fisiológicos, é capaz de conquistar novos mercados, sendo a tecnologia pós-colheita fundamental em um sistema de comercialização, pois proporciona a conservação mais adequada do produto e diminui as perdas em qualidade e quantidade. Isto permite ao produtor a flexibilização na comercialização e ao consumidor garantia de obter com regularidade produto de melhor qualidade, daí a necessidade de desenvolvimento de novas tecnologias que alentem esse sistema.

Dados da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), citado no Anuário Brasileiro de Fruticultura (2014), indicam que o

consumo *per capita* de frutas no Brasil e nos demais países continuará aumentando a taxas que superam o crescimento da economia mundial e doméstica. Diante dessas perspectivas, o fruticultor brasileiro, buscando maior espaço no mercado, deve valorizar a qualidade do seu produto, tendendo a procurar, cada vez mais focar seus investimentos em boas práticas agrícolas, na melhoria dos tratamentos pós-colheita, no armazenamento a frio e na modernização do transporte e da logística. Nos próximos anos, aqueles que não se adequarem a essa nova realidade do mercado, perderão competitividade sendo automaticamente excluídos da atividade (CNA, 2013). Os últimos dados sobre o consumo de frutas frescas são os da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF), do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). De acordo com esse levantamento, em 2002, a média de frutas consumidas em casa era de 24,49 kg/pessoa/ano; em 2008, passou para 28,86 kg/pessoa ao ano. Neste intervalo, houve aumento médio de 4,38 quilos por pessoa ao ano, com a laranja e a banana mantendo-se como as preferidas (IBGE, 2011).

A interferência benéfica do fungicida piraclostrobina nos processos metabólicos de plantas, resultando em benefícios na produtividade e/ou qualidade já é conhecida; alguns autores apontam os efeitos fisiológicos desta molécula sob diversos níveis de complexidade, desde o efeito verdejante, frequentemente mencionado em avaliações de campo até as influências na regulação hormonal, assimilação de carbono e nitrogênio, retardo na senescência, estresse oxidativo e indução de resistência a vírus (GROSSMANN; RETZLAFF, 1997; YPEMA; GOLD, 1999; VENÂNCIO et al., 2004). A estrobilurina também atua na síntese de etileno em condições de estresse e senescência, através da redução na atividade da enzima ácido-aminociclopropano-carboxílico sintase (ACC-sintase), inibindo a síntese de etileno (KÖEHLE et al., 2002). O etileno e o ácido abscísico são tidos como promotores do amadurecimento em frutos, enquanto as giberelinas, as auxinas, as citocininas e os íons cálcio como inibidores (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente trabalho objetivou avaliar frutos de laranja ‘Natal’ armazenados em condições ambiente e sob refrigeração, após terem sido tratados com piraclostrobina em pré e pós-colheita, buscando analisar as alterações causadas pelo tratamento nas características de qualidade pós-colheita, bem como, certificar-se da segurança da sua utilização, quantificando os níveis de resíduo da molécula no fruto.

2.2 Objetivos específicos

2.2.1 Análise de resíduo para detecção do produto e seus metabólitos nos frutos ao longo do armazenamento.

2.2.2 Atividade das enzimas do complexo antioxidante: superóxido dismutase, catalase, peroxidase além da peroxidação lipídica.

2.2.3 Qualidade e conservação dos frutos através de análises físico-químicas.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Histórico e importância econômica dos citros

Dentre as árvores frutíferas, uma das mais conhecidas, cultivadas e estudadas em todo o mundo é a laranjeira. Plantas cítricas, assim como a laranjeira, são nativas da Ásia, mas a região de origem é motivo de controvérsia. No entanto, vários historiadores afirmam que as plantas cítricas teriam surgido no leste asiático, nas regiões que incluem hoje a Índia, China, Butão, Birmânia e Malásia (HASSE, 1987).

No Brasil, a história da citricultura está intimamente ligada à própria história do país. Poucos anos após a descoberta do Brasil, entre 1530 e 1550, os portugueses introduziram as primeiras sementes de laranja doce nos Estados da Bahia e São Paulo. Relatos do padre Manoel da Nóbrega, datados de 1549, afirmam que “cidras, laranjas e limões dão-se em muitas quantidades” (SALIBE, 2000).

As condições ecológicas favoráveis encontradas no Brasil favoreceram a produção a ponto dos frutos da laranja ‘Bahia’ serem reconhecidos ainda no Brasil Colônia como maiores, com maior teor de suco e de excelente qualidade, superando os frutos produzidos em Portugal. Contudo, somente a partir dos anos 30 do século passado, a citricultura foi implantada comercialmente nos Estados de São Paulo, Rio de

Janeiro e Bahia, tendo apresentado maiores índices de crescimento nos estados do Sudeste e Sul (EMBRAPA, 2003).

No final da década de 80, a combinação entre uma indústria citrícola competitiva e a produção da cultura fez com que o Brasil se tornasse o maior produtor de laranja, superando os Estados Unidos em produção (CITRUSBR, 2014). Os altos preços do suco de laranja atraíram novos produtores e a implantação de novos pomares aumentou em taxas de 12 a 18% ao ano. Desde então, a produção brasileira dobrou enquanto que a americana diminuiu ano após ano (NEVES et al., 2011). Hoje a laranja é a fruta mais produzida no país e sua safra serve de termômetro para o resultado final de cada ano da fruticultura (IBRAF, 2014).

Atualmente a citricultura brasileira está começando a se recuperar das dificuldades impostas por longo período de preços baixos, pagos pelas indústrias processadoras, que somados aos altos estoques de sucos, interferências climáticas e altos índices de doenças nos pomares resultaram na redução da área plantada e pouco investimento em tecnologia. A expectativa para 2016 é que as indústrias iniciem a próxima safra com uma queda de 41% no equivalente concentrado de suco de laranja em comparação com 2015 (CITRUSBR, 2016).

A Associação Nacional dos Exportadores de Suco Cítricos (CITRUSBR, 2016) confirmou a redução do estoque da indústria em 232 mil toneladas de suco concentrado no ano de 2014, quantidade 30,28% menor do que no mesmo período no ano anterior. Essa redução equivale mais do que o consumo anual da Alemanha, segundo maior destino brasileiro de suco concentrado. O dado confirma a tendência de queda nos estoques, que nos últimos anos se acumularam em função de dois períodos de super oferta nas safras 2011/2012, com 428 milhões de caixas e 2012/2013, com 385 milhões de caixas.

Outro fator que alenta a citricultura brasileira são os dados de queda na produção da Flórida. Segundo estimativa do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) para a safra 2015/2016 a produção do estado ficará em torno de 69 milhões de caixas, o que representaria uma queda de 29% diante o ciclo anterior. De acordo com o Centro de Estudos Avançados de Economia Aplicada, a baixa produção da Flórida pode manter em bons níveis as importações norte-americanas de suco do Brasil (CEPEA, 2015).

O Brasil destaca-se como o maior produtor mundial de citros com 311.400 milhões de caixas colhidas na safra 2014/15. A estimativa para a safra 2015/2016

é de 286,14 milhões de caixas de 40,8 quilos para o cinturão citrícola, que compreende São Paulo e Sul de Minas Gerais (FUNDECITRUS, 2015). Desse total, 61,5 milhões de caixas serão destinadas ao mercado doméstico e de exportação de fruta *in natura*, 224,6 milhões de caixas de laranja devem ser destinadas ao processamento pelas indústrias (CITRUSBR, 2016).

De acordo com o Fundecitrus, há 197,860 milhões de árvores de laranja no parque citrícola, das quais 88% estão em produção. A área total de citros compreende 492.544 hectares; 443.598 hectares (90,07%) são de laranja, destes 12.980 hectares (2,64%) são das variedades Laranja lima, Bahia, Shamouti e Lima doce voltada exclusivamente para o consumo *in natura* e 430.618 hectares plantados com as laranjas que vão para o mercado de fruta e para o processamento de suco. Os limões e limas ácidas (Tahiti) ocupam 28.912 hectares (5,87%) e as tangerinas 10.079 hectares (2,05%). Há ainda 9.953 hectares (2,02) representados por pomares abandonados (FUNDECITRUS, 2015).

Ainda segundo o Fundo de defesa da Citricultura, o setor com mais plantio de citros está no Centro do estado de São Paulo, com 29,46% da área de citros do parque citrícola, as principais variedades de laranja doce produzida são: Pêra (29,0%), Valência (28,5%), Hamlin (12,7%) e Natal (10,9%).

3.2 Fisiologia pós-colheita de frutos cítricos

O Brasil destaca-se mundialmente na produção de citros sendo a laranja a principal espécie cítrica cultivada. Essa alta produção brasileira deve-se ao grande mercado mundial de exportação de suco, que com o conhecimento das qualidades nutricionais, exigem cada vez mais da cadeia produtiva. Contudo, a fruta brasileira ainda apresenta deficiências quanto à qualidade, principalmente para o consumo *in natura*. A produção desse tipo de fruto tanto para o mercado interno, quanto para o externo, tem-se destacado pela crescente necessidade da melhoria da qualidade dos frutos (IAC, 2008).

As perdas pós-colheita entre frutos, causadas por podridão nos armazéns, nas embalagens, redução de massa, danos sofridos no manuseio de carga e descarga e deterioração da aparência e sabor; somadas podem chegar a 50%, tornando

necessário o desenvolvimento de técnicas adequadas para manter os frutos com suas propriedades e qualidade, por um período maior de armazenamento (TODISCO, 2012).

Frutas cítricas são produtos vegetais perecíveis que apresentam um período de vida pós-colheita curto ou médio, dependendo do cultivar. A maioria dos fatores de qualidade das frutas está relacionada ao potencial genético do cultivar e ao processo de produção no pomar, porém sua qualidade pode ser afetada de forma negativa, caso o manuseio pós-colheita não seja adequado. Ademais, a principal característica das frutas em geral, é sua condição de tecido vivo, que é submetido a constantes mudanças, reversíveis ou irreversíveis, tanto na fase de produção no pomar quanto na fase de pós-colheita (PEREIRA et al., 2006).

Segundo o mesmo autor, mudanças sofridas pelo fruto relacionadas à maturação e amadurecimento dos tecidos, são extremamente desejáveis, pois contribuem para sua melhor apresentação, sabor e aroma. Entretanto, outras mudanças, principalmente as relacionadas à senescência, não são desejáveis e contribuem para a morte dos tecidos e consequente, redução na qualidade do fruto.

De acordo com Chitarra e Chitarra (2005), o período de maturação é caracterizado por uma redução na taxa de crescimento atingindo crescimento pleno e máxima qualidade comestível, com o fruto ainda na planta. O amadurecimento, por sua vez, corresponde ao período final da maturação, durante o qual, o fruto apresenta-se completamente desenvolvido, com aparência externa e qualidade interna ideal para o consumo.

Segundo Hulme (1970) e Pantastico (1975), os fenômenos relacionados com o amadurecimento incluem degradação das clorofilas *a* e *b* e síntese de novos pigmentos, como os carotenóides, alterações de sabor, diminuição de acidez e adstringência e elevação no teor de sólidos solúveis também fazem parte desse estágio.

No período subsequente ao amadurecimento ocorre redução nos processos de síntese e predominância nos degradativos, que resultam na morte dos tecidos, caracterizando a fase denominada senescência. Essa fase é considerada como um evento degenerativo internamente programado, dada sua especificidade em termos de quando, onde e como ocorre. Não é apenas um processo de envelhecimento passivo. Embora progreda com a idade, é controlada por sinalizadores internos e externos, podendo assim, ser retardada ou acelerada pela alteração desses sinalizadores. Os mecanismos que ocorrem durante esse período são agrupados em duas categorias: deficiência nutricional e

programação genética, com indutores como o etileno e o ácido abscísico e inibidores, como as citocininas, poliaminas e íons cálcio (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Segundo Purvis (1997) várias reações responsáveis pela síntese de compostos como pigmentos, compostos fenólicos e hormônios vegetais acoplados ao processo respiratório, fundamental no processo de amadurecimento e longevidade dos frutos pós-colheita, já que o processo respiratório também provoca modificações nos seus constituintes químicos, leva à perda de massa e acelera o processo de senescência (WILLS et al., 1981).

De acordo com o padrão de atividade respiratória, os frutos podem ser classificados como climatéricos ou não-climatéricos. Frutos climatéricos são caracterizados pela diminuição na taxa respiratória ao longo do seu crescimento que, ao final do seu desenvolvimento durante o processo de maturação e amadurecimento, aumenta rapidamente, até um máximo, e, em seguida diminui, acelerando os processos de amadurecimento e senescência do fruto; o aumento de respiração climatérica é acompanhado por um pico autocatalítico na produção de etileno (LELIÉVRE et al., 1997; PÉRIN et al., 2002; KAYS; PAULL, 2004). Segundo Giovannoni (2001), em frutos com climatério respiratório o etileno é necessário para coordenar e completar o amadurecimento.

Já os frutos não climatéricos são caracterizados pela diminuição gradativa da taxa respiratória do fruto durante o amadurecimento, apresentam taxas de evolução de etileno reduzidíssimas (LURIE; KLEIN, 1990; KAYS; PAULL, 2004; CHITARRA; CHITARRA, 2005) e as transformações bioquímicas, que tornam o fruto maduro, ocorrem de forma mais lenta (WILLS et al., 1998).

As laranjas são frutos não-climatéricos e por isso, devem estar no estágio ótimo de amadurecimento à época da colheita, assim terão atingido a composição bioquímica desejável. O grau de maturação do fruto no momento da colheita é importante, pois condiciona sua qualidade pós-colheita. É considerado maduro o fruto que apresentar características físico-químicas definidas para cada variedade (PEREIRA et al., 2006).

Em laranjas, os fatores determinantes mais importantes são a cor da epiderme, a rugosidade da casca, conteúdo de açúcares e ácidos, bem como o volume de suco (CHITARRA; CHITARRA, 2005). A norma do Programa Brasileiro para a Modernização da Horticultura apresenta os valores de alguns índices de maturação para frutos cítricos (Tabela 1).

Tabela 1. Valores de índices de maturação em frutos cítricos em São Paulo.

Laranjas e tangerinas	Lima ácida (Limão) ‘Tahiti’
Mínimo de suco: 35-45%	Mínimo de suco: 40%
Sólidos solúveis (SS): 9-10 °Brix	Perda de rugosidade da casca
Relação SS/AT – ratio: 8,5-10	Cor verde-escuro → verde claro

Fonte: Normas de classificação de citros de mesa/CEAGESP, 2011.

Quando frutos cítricos são colhidos antes de alcançar o ponto ideal de maturação, têm uma baixa qualidade gustativa e são sensíveis aos danos causados pelo frio. No entanto, frutos cítricos colhidos muito maduros apresentam pouca firmeza, maior suscetibilidade aos danos mecânicos, podridões, alterações fisiológicas e possuem menor vida de armazenamento e de prateleira (PEREIRA et al., 2006). A casca de muitos frutos cítricos maduros pode entrar em senescência precoce, apresentando falhas na formação do albedo, formando estrias (“creasing”), ou depressões (“bufado”) na casca (AGUSTÍ; ALMELA, 1991).

As tecnologias aplicadas em pós-colheita de frutos buscam manter a qualidade através da aparência, textura, sabor, valor nutritivo, segurança alimentar e também reduzir perdas qualitativas e quantitativas entre a colheita e consumo, ou seja, objetivam preservar a qualidade que o fruto alcançou no pomar até sua chegada à mesa do consumidor (SPRICIGO, 2011).

O tratamento pós-colheita adequado, que inclui o resfriamento, garante várias vantagens como: consumo de um produto de melhor qualidade, menores perdas para o comerciante, aumento do tempo de comercialização com menor desperdício e maiores ganhos (VOLPE; SCHOFFEL; BARBOSA, 2002). Importante parte da produção mundial de laranjas é comercializada na forma de suco; ainda assim, os volumes *in natura* nos mercados para consumo de mesa, são consideráveis. Dessa forma, a qualidade dessas laranjas deve ser compatível com as exigências dos consumidores, sendo necessário o uso de tecnologia pós-colheita (BENDER, 2006).

3.3 Piraclostrobina

No início dos anos 80 foi observado que um fungo habitante de cones de *Pinus*, *Strobilurostenacellus*, produzia uma substância pertencente ao grupo β -methoxyacrilatos, capaz de inibir o crescimento de outros fungos, essa substância então, foi isolada e denominada estrobilurina-A. Os primeiros produtos sintéticos desse grupo, a azoxistrobina e o kresoxim-methyl, foram produzidos e patenteados pela ICI, hoje Syngenta e BASF em 1992; em 1996 esses produtos começaram a ser comercializados para o controle de doenças em cereais (BARLETT et al., 2001). A descoberta do poder fungicida das estrobilurinas representou significativo desenvolvimento na produção de fungicidas baseados em compostos derivados de fungos (PARREIRA et al., 2009; RAMOS, 2013).

Em adição à sua aptidão antifúngica, observou-se que, as estrobilurinas possuem efeitos fisiológicos positivos no rendimento das culturas sobre as quais são aplicadas, causando possíveis alterações no metabolismo e crescimento (KÖEHLE et al., 1994; RODRIGUES, 2009) que resultam em maior produtividade, folhas mais verdes, com mais clorofila e maior desenvolvimento das plantas (GROSSMANN; RETZLAFF, 1997; BASF, 2005; MACEDO, 2012). Esse fato foi observado, pois, mesmo sem qualquer alteração ocasionada por fungos patogênicos, as plantas tratadas com essa substância apresentaram maior vigor e maior produção, quando comparadas às plantas sem tratamento (HARVEY, 2002; WISE; MUELLER, 2011). Bryson et al. (2000) ressaltam que a estrobilurina incrementa a taxa fotossintética e diminui a respiração celular.

As estrobilurinas são conhecidas como fungicidas inibidores da quinona oxidase (Qo) e sua toxicidade advém da inibição da cadeia respiratória ao nível do complexo III, impedindo a cadeia bioquímica de transferência de elétrons no sítio da mitocôndria (BARTLETT et al., 2002). Algumas das estrobilurinas mais comuns são a azoxistrobina, metil-cresoxima, picoxistrobina, fluoxastrobina, orizastrobina, dimoxiystrobina, piraclostrobina e trifloxistrobina (PARREIRA et al., 2009).

Estudos mostram que a estrobilurina causa pequena alteração no ponto de compensação de CO₂ das plantas, indicando que a rota alternativa da respiração (AOX) sofre aumento transitório e pode sobrepor a redução esperada da emissão de CO₂ devido à redução da respiração mitocondrial (YPEMA; GOLD, 1999). Esse fato leva à

queda nos níveis celulares de ATP e o aumento na concentração de prótons (H^+) no citosol, resultando na ativação da enzima nitrato redutase.

A nitrato redutase (NR) catalisa a primeira base de absorção de nitrato do solo e, por isso, é considerada um aspecto relevante para o efeito do aumento na biomassa das plantas tratadas com estrobilurina, já que esse acréscimo requer grande assimilação de nitrogênio (KÖEHLE et al., 2002). Além de catalisar a oxidação do nitrato em nitrito, a NR é responsável pela oxidação de nitrito em óxido nítrico (NO) (PLANCHET; KAISER, 2006, CRAWFORD, 2006), que desempenha papel importante em diversos processos do crescimento e desenvolvimento, bem como situações de estresses bióticos e abióticos (NARITA, 2010).

O NO é uma molécula bioativa que pode regular a produção de etileno por meio da inibição estequiométrica direta ou inibindo enzimas que atuam na biossíntese desse hormônio (MANJUNATHA et al., 2012). Essa molécula tem a capacidade de se ligar à ACC oxidase resultando na formação do complexo ACC oxidase-NO, o qual forma um complexo estável ACC-ACC oxidase-NO que bioquimicamente reduz a produção de etileno (VIEIRA, 2013). Desse modo, comprova-se a influência da estrobilurina também na síntese de etileno em condições de estresse e senescência.

Grossmann et al. (1999); Oerke et al. (2001); Bartlett et al. (2002); e Ramos (2013) também afirmam a influência da estrobilurina na produção de etileno através da redução na atividade da enzima ácido-aminociclopropano-carboxílico sintase (ACC-sintase) e relaciona esse fato com a persistência da clorofila nas folhas. Os mesmos autores relatam aumento da concentração de citocinina e ácido abscísico (ABA) sem, no entanto, haver aumento na concentração de ácido indolilacético (IAA), já que ela apresenta uma atividade parecida com a auxina, mas não aumenta diretamente seu nível. O etileno e o ácido abscísico são tidos como promotores do amadurecimento em frutos, enquanto as giberelinas, as auxinas, as citocininas e os íons cálcio como inibidores (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

O aumento nos níveis endógenos de ABA permite a adaptação da planta a situações de estresse hídrico, aumentando a eficiência do uso da água e a baixas temperaturas; no entanto, em concentrações muito altas, promove a abscisão e senescência foliar, além de inibir a abertura estomática (KÖEHLE et al., 1994, VENÂNCIO et al., 2004).

Assim, o efeito fisiológico observado é resultante do aumento da fotossíntese líquida (fotossíntese total, menos a respiração mais a fotorrespiração), provocada pela redução temporária da respiração das plantas, o que gera menor perda de carbono, resultando em mais energia para a planta. Além disso, aumenta a atividade da enzima nitrato-redutase e provoca um melhor balanço hormonal, aumentando o I6-ADE (Isopentenil Adenina) e o ABA, diminuindo a produção de etileno (KÖEHLE et al., 1994; YPEMA; GOLD, 1999).

Trabalhos realizados por Sirtoli (2010), Amaro (2011) e Macedo (2012) mostram forte ação desses produtos na atividade de enzimas antioxidantes, tendo sido determinadas as atividades da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POD), evidenciando ação antiestresse nas plantas tratadas.

3.4 Complexo oxidante e antioxidante

É normal durante a atividade metabólica dos organismos a formação de espécies reativas do oxigênio (EROs), também conhecidas como “*reactiveoxygen species*” (ROS); contudo, perturbações ambientais como elevadas ou baixas temperaturas, seca, salinidade, radiação ultravioleta, ozônio e infecções patogênicas podem potencializar essa formação (APEL; HIRT, 2004; FOYER; NOCTOR, 2005).

As EROs são constituídas pelos radicais livres (radicais superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e os radicais hidroxila ($^{\cdot}OH$), definidos assim, por serem átomos, grupo de átomos ou moléculas capazes de existir sob forma independente e que contém um ou mais elétrons desemparelhados na camada de valência e por outros, que, embora não possuam elétrons desemparelhados, são muito reativos devido à sua instabilidade (oxigênio singleto – $1O^2$) e peróxido de hidrogênio – H_2O_2) (SCANDALIOS, 2005; GILL; TUTEJA, 2010; WRZACZEK; BROSCHE; KANGASJÄRVI, 2013).

Para evitar o acúmulo das EROs as plantas possuem sistemas de defesa antioxidantes eficientes, enzimáticos e não-enzimáticos, que permitem a eliminação dessas espécies ativas e a proteção contra os danos oxidativos às células (HERNÁNDEZ et al., 2001). As defesas não enzimáticas incluem as vitaminas C e E, glutathione (GSH), β -caroteno, compostos fenólicos, tocoferóis e poliaminas. Enquanto o sistema defensivo enzimático envolve a ação de enzimas como a superóxido dismutase (SOD), catalases (CAT), peroxidases (POD), glutathioneperoxidase (GPX), ascorbateperoxidase (APX),

glutathioneredutase (GR) e glutathione S-transferase (GSTs) (BLOKHINA et al., 2003; SCANDALIOS, 2005). Ao lado de outros mecanismos fisiológicos, a eficiência do sistema antioxidante aumenta a capacidade de tolerância da planta, devido à diminuição dos efeitos causados pelas EROs (AMARO, 2011).

Quando produzidas em excesso, as espécies reativas de oxigênio superam a ação do sistema antioxidativo, o que provoca desbalanço na sua formação e no seu metabolismo, ocasionando assim o estresse oxidativo (NEILL et al., 2002).

No entanto, as EROs também possuem função sinalizadora nas células para os genes de proteção celular, participando do sistema de defesa contra infecções de diversas maneiras através de seu efeito tóxico direto ao patógeno, pela formação de precursores de polímeros de lignina e da resistência sistêmica adquirida (SAR) (RESENDE; SALGADO; CHAVES, 2003; WRZACZEK; BROSCHE; KANGASJÄRVI, 2013).

3.4.1 Peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica é o processo através do qual as EROs, produzidas em excesso, atacam os ácidos graxos poli-insaturados dos fosfolípidios das membranas celulares, desintegrando-as e permitindo a entrada dessas espécies nas estruturas intracelulares, além de alterarem a funcionalidade das membranas. Isso tudo leva à perda da seletividade na troca iônica e extravasamento iônico, além da liberação do conteúdo de organelas, como as enzimas hidrolíticas dos lisossomos e formação de produtos citotóxicos, culminando com a morte celular (BLOKHINA et al., 2003).

3.4.2 Enzimas antioxidantes

Enzimas relacionadas ao estresse oxidativo, reduzem de forma eficiente as espécies reativas de oxigênio, quando submetidas às condições normais. Porém, se a redução completa não ocorrer, devido à produção excessiva de EROs ou à inibição da atividade das defesas antioxidantes, o resultado pode ser a oxidação de biomoléculas como lípidios, cuja oxidação altera as propriedades físicas das membranas celulares e, conseqüentemente, a sua função. Também proteínas, cuja oxidação conduz à perda de função ou à degradação prematura nos proteossomos e o DNA, cuja oxidação pode conduzir às mutações gênicas, à síntese protéica anormal, alteração na expressão

gênica e, por fim, à morte celular (SORG, 2004). Além disso, a oxidação e a inativação dos componentes celulares podem desencadear o processo de morte da célula (BUCKNER et al., 2000).

3.4.2.1 Superóxido dismutase

A superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) constitui a primeira linha de defesa contra as EROs dentro das células (ALSCHER et al., 2002) e atua dismutando o superóxido ($O_2^{\circ-}$) a peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (SCANDALIOS, 2005).

A SOD é uma enzima ubíqua, sendo amplamente distribuída entre organismos aeróbicos, anaeróbicos facultativos e obrigatórios. Três tipos distintos de SODs foram observados numa grande variedade de organismos, diferindo no tipo de íon metálico presente no sítio ativo (SCANDALIOS, 1993). Deste modo, existem formas dessa enzima que contêm cobre e zinco (Cu/ZnSOD), manganês (MnSOD) ou ferro (FeSOD). As enzimas Fe-SODs estão presentes nos cloroplastos, enquanto que as Mn-SODs na matriz mitocondrial. As Cu/Zn SODs são normalmente encontradas no citosol e, possivelmente, no espaço extracelular, sendo que algumas plantas contêm isoformas nos cloroplastos (TSANG et al., 1991; ALSCHER et al., 2002; GILL; TUTEJA, 2010).

3.4.2.2 Catalase

A catalase (CAT, EC 1.11.1.6) é uma proteína homotetramérica que contém um grupo heme (CHANCE et al., 1979), comumente encontrada nos peroxissomos e glioxissomas. É considerada uma das mais eficientes enzimas antioxidantes, pois possui a capacidade de degradar rapidamente o peróxido de hidrogênio em H_2O e O_2 . Apresenta função combinada com a SOD, de modo que a CAT converte o H_2O_2 originado em função da atividade da SOD, em H_2O e O_2 (SCANDALIOS, 1993).

As catalases podem ser separadas em três classes, sendo a primeira as catalases da classe I que são responsáveis por remover o H_2O_2 produzido pelo processo da fotorrespiração; as catalases da classe II que participam do processo de lignificação e se localizam nos tecidos vasculares e as catalases da classe III as quais estão presentes nas sementes e plantas jovens participando da degradação do H_2O_2 , originado da degradação dos ácidos no glioxissoma (RESENDE et al., 2003).

Essa enzima tem sido descrita como susceptível à fotoinibição e degradação. Após sua inativação pela luz, a atividade da catalase é fortemente dependente de uma nova síntese da enzima, como relatado por Hertwig et al. (1992).

3.4.2.3 Peroxidase

As peroxidases (PODs, EC 1.11.1.7) desempenham importante papel na biossíntese da parede celular, podendo ajudar na defesa ao ataque de patógenos, aumentando as barreiras mecânicas, tornando a penetração do patógeno mais lenta, mas também, estão envolvidas nas respostas ao estresse. São encontradas em diversas isoformas, que usam diferentes redutores e estão localizadas em diversos compartimentos celulares (CAMPA, 1991). As PODs, além da sua função principal na eliminação do H_2O_2 , também podem catalisar a formação de $O_2^{\cdot-}$ e H_2O_2 através da complexa reação na qual o NADH é oxidado usando traços de H_2O_2 , produzido primeiramente pela partição não enzimática da NADH. Em seguida, o radical $NAD^{\cdot+}$ formado reduz O_2 a $O_2^{\cdot-}$, alguns dos quais catalisam em H_2O_2 e O_2 (BLOKHINA et al., 2003).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado em pomar comercial de laranja ‘Natal’, com 10 anos de idade, enxertados sob limoeiro cravo no espaçamento 7,0 x 4,0 m na Fazenda Santa Rosa, localizada no município de Avaré/SP, situado a 23° 6' 16"S, 48° 56' 23"O e 786 m de altitude. O clima é do tipo subtropical úmido (Classificação climática de Köppen-Geiger: Cfa)

Foi utilizado o delineamento experimental em blocos casualizados, em parcelas subdivididas, com oito tratamentos e quatro repetições, cada qual constituída por 3 plantas, sendo as parcelas representadas pelas aplicações pré e pós-colheita e suas combinações; em duas doses e as subparcelas pelo tempo de armazenamento (dias após a colheita).

Em pré-colheita, o fungicida foi aplicado mediante uso de turbo atomizador tratorizado, pressão de 12,41 bar (Figura 1A), enquanto em pós-colheita, o mesmo foi diluído em cera de carnaúba (ARUA[®]) e pulverizado no packing-house no momento da colheita (Figura 1).

Foram utilizadas as recomendações do fabricante, registradas para a cultura do citros, para determinação das concentrações do produto a ser utilizada. O fungicida Imazalil foi utilizado como ‘testemunha comercial’ uma vez que esse é o único produto recomendado para pós-colheita de frutos cítricos.

Os tratamentos consistiram na aplicação do fungicida piraclostrobina na forma do produto comercial *Comet*[®] (piraclostrobina – 250 g L⁻¹) em pré e pós-colheita nas doses D1= 0,01 mL de p.c./L e D2= 0,015 mL de p.c./L, e pela combinação das duas épocas de aplicação, da seguinte maneira: T1- Controle (sem aplicação de fungicida); T2- aplicação de Imazalil (Magnate 500 EC), utilizando a concentração de 5 mL/L, sendo os frutos pulverizados pós-colheita; T3- aplicação de piraclostrobina na dose D1, aos 20 e 10 dias pré-colheita; T4- aplicação de piraclostrobina na dose D1, aos 20 e 10 dias pré-colheita e na pós-colheita; T5- aplicação de piraclostrobina, na dose D1, pós-colheita; T6- aplicação de piraclostrobina, na dose D2, aos 20 e 10 dias pré-colheita; T7- aplicação de piraclostrobina, na dose D2, aos 20 e 10 dias antes da colheita e na pós-colheita; T8- aplicação de piraclostrobina, na dose D2, na pós-colheita.

O presente estudo foi dividido quanto à forma de armazenamento, em dois experimentos, analisados separadamente e comparados posteriormente. O primeiro avaliou a qualidade pós-colheita e atividade antioxidante em frutos de laranja ‘Natal’, tratados com piraclostrobina e armazenados em condições ambiente de temperatura e umidade (21,3 - 28,9 °C e 62,4% de UR) por 28 dias. No segundo, avaliaram-se os mesmos parâmetros em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, contudo, armazenados em condições controladas de temperatura e umidade relativa (8 ± 1 °C e 92% de UR) por 36 dias.



Figura 1. Aplicação pré-colheita de piraclostrobina em frutos de laranja ‘Natal’. Avaré-SP, 2016.



Figura 2. Aplicação pós-colheita de piraclostrobina em frutos de laranja ‘Natal’. Avaré-SP, 2016.

4.1 Armazenamento em condições ambiente

Após aplicação dos tratamentos, foram amostrados 240 frutos de laranja ‘Natal’, os quais foram divididos em quatro repetições e armazenados sob

condições ambientes de temperatura e umidade (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por um período de 28 dias (Figura 3), sendo as avaliações realizadas aos 0, 7, 14, 21 e 28 dias pós-colheita para as análises físico-químicas e aos 3, 7, 14, 21 e 28 dias pós-colheita para as análises bioquímicas.



Domiciano (2015)

Figura 3. Frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%). por 28 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

4.2 Armazenamento refrigerado

Para a avaliação dos frutos de laranja ‘Natal’, tratados com piraclostrobina e armazenados sob refrigeração, foram amostrados 400 frutos por tratamento, divididos em quatro repetições, os quais foram transportados à Fazenda Experimental São Manuel, localizada em São Manuel-SP, pertencente à Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista, onde foram armazenados em câmara fria, com temperatura de 8°C ± 2°C e umidade 95%, por 36 dias. Neste experimento as coletas das amostras foram realizadas a cada doze dias (0, 12, 24 e 36 dias pós-colheita) para análises físico-químicas e aos 12, 24 e 36 dias pós-colheita para análises bioquímicas.



Figura 4. Frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura (8 ± 1 °C e $92 \pm 2\%$ de UR) controlada por 36 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

4.3 Análises

Para os dois tipos de armazenamento foram realizadas as mesmas análises, descritas a seguir, exceto ‘perda de massa’ para os frutos armazenados sob refrigeração.

4.3.1 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas a cada sete dias para armazenamento em condições ambientes e a cada 12 dias para armazenamento sob refrigeração, utilizando-se três frutos por repetição para ambos. Os frutos foram levados ao Laboratório de Fruticultura do departamento de Horticultura da FCA/UNESP- Botucatu, onde foram avaliadas as seguintes características:

- Rendimento do suco (RS, em %) [(relação entre as massas do suco e dos frutos) x 100].
- pH, determinado no suco dos frutos por leitura direta, utilizando-se potenciômetro (Digital DMPH-2), conforme normas do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005).

- Sólidos solúveis (SS), realizadas conforme recomendação feita pela Association of Official Analytical Chemistry (2005) onde duas gotas do suco das laranjas foram colocadas no prisma do refratômetro digital (Atago®, modelo PR32), e após um minuto fez-se a leitura direta em °Brix.

- Acidez titulável (AT), determinada por meio da titulação de 3 mL de suco homogeneizado e diluído para 100 mL de água destilada, com solução padronizada de hidróxido de sódio a 0,1 N, expressa em g de ácido cítrico 100mL^{-1} de suco, tendo como indicador a fenolftaleína, conforme normas do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005).

- *Ratio* (relação SS/AT), conforme as normas do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005).

- Teor de ácido ascórbico, determinado a partir de 3 mL de suco, por titulação com 2,6-diclorofenolindofenol (DFI) a 0,01 N, com resultados expressos em mL de ácido ascórbico 100mL^{-1} de suco (CARVALHO et al., 1990).

- Perda de massa, determinada pela diferença entre as pesagens em cada intervalo de tempo (4 dias) e os resultados foram expressos em porcentagem (%).

- Índice tecnológico (IT), equivalente à quantidade de sólidos solúveis totais no suco (kg), em uma caixa de colheita de frutos de 40,8 kg, obtido pela seguinte fórmula: $IT = (RS.SS.40,8) / 10^4$ (DI GIORGI et al., 1990).

- Rendimento industrial (RI), ou seja, o número de caixas por tonelada de suco concentrado, de acordo com a seguinte fórmula: $RI = 660/IT$, onde 660 = 660 kg de sólidos solúveis em 1.000 kg de suco concentrado e IT = índice tecnológico.

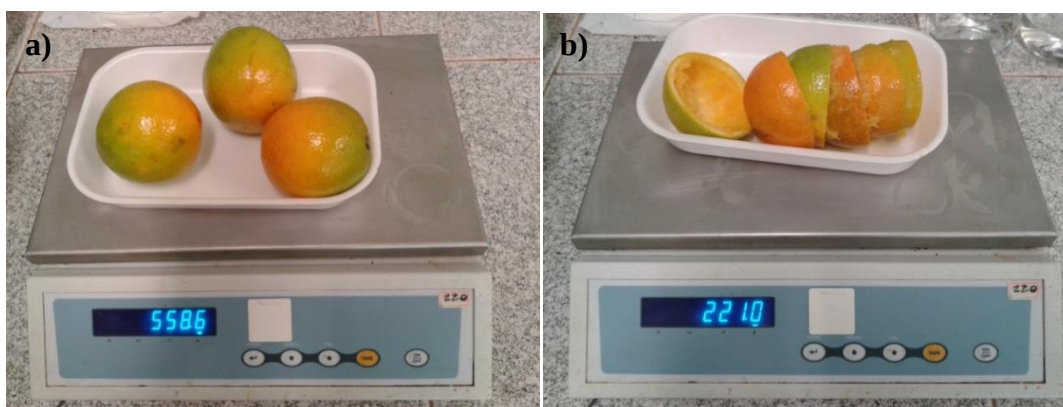


Figura 5. Determinação do volume de suco nos frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina. a) pesagem do fruto inteiro b) pesagem da casca do fruto FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

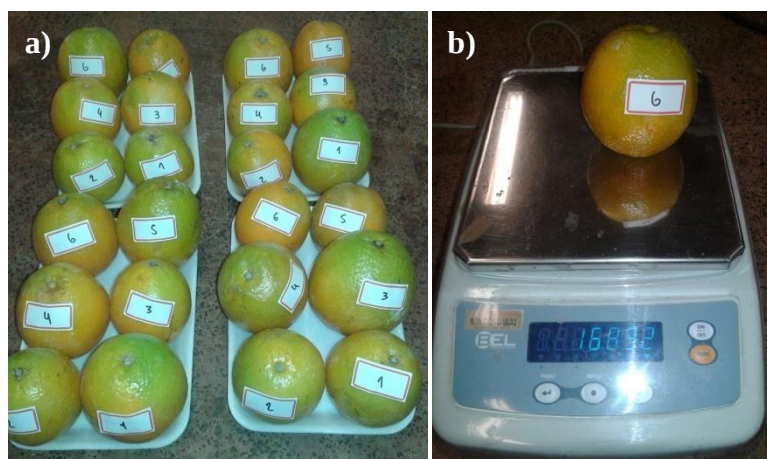


Figura 6. Determinação da perda de massa em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina. A) Distribuição das parcelas em bandejas. B) Pesagem unitária dos frutos. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

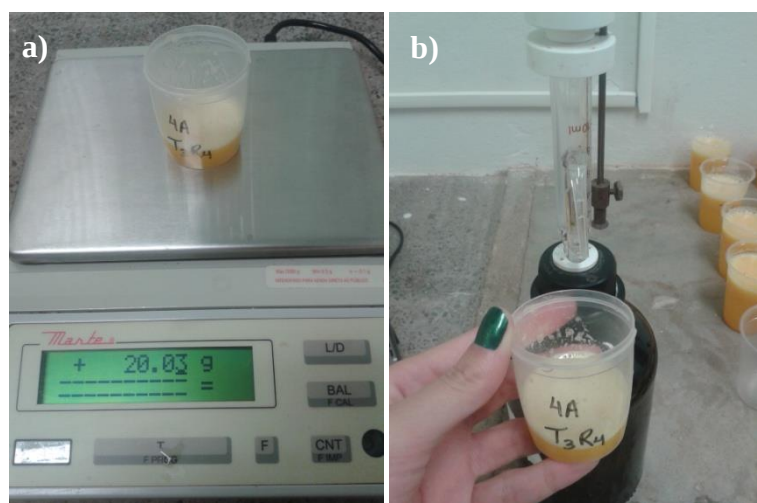


Figura 7. Preparo da amostra para determinação de ácido ascórbico em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobin. a) pesagem de 20 g de suco; b) adição de 20 mL de ácido oxálico. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

4.3.2 Análises bioquímicas

Para as análises bioquímicas foi coletado um fruto por repetição, aos 3, 7, 14, 21 e 28 dias para armazenamento ambiente e também um fruto aos 12, 24 e 36 dias para armazenamento sob refrigeração. Esses frutos foram descascados, cortados, congelados em nitrogênio líquido e levados ao laboratório de Fisiologia Vegetal do

Departamento de Botânica do IBB/UNESP para a determinação da atividade das enzimas do complexo antioxidante e peroxidação lipídica (Figura 8).

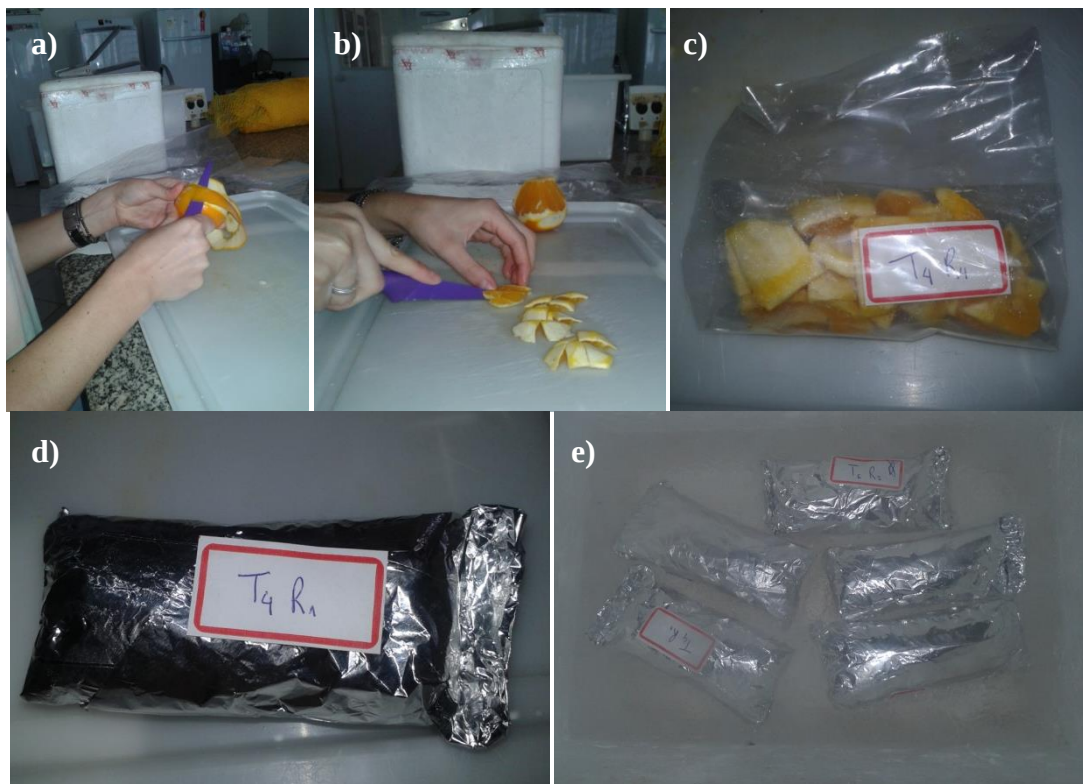


Figura 8. Preparo da amostra para realização das análises bioquímicas. a) retirada da casca; b) segmentação dos frutos; c) primeira embalagem: saco plástico etiquetado; d) segunda embalagem: papel alumínio; e) congelamento das amostras em nitrogênio líquido. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

A extração enzimática foi realizada segundo metodologia proposta por Kar e Mishra (1976). Foram utilizados 300 mg do fruto (albedo + polpa) macerado em nitrogênio líquido. Em seguida, homogeneizou-se o material vegetal em 4 mL de tampão fosfato de potássio (0,1M, pH 6,8) gelado. A solução extraída foi centrifugada a 10000 x g por 10 minutos a 4°C. O extrato obtido foi separado em microtubos e armazenado a -20°C para posterior determinação.

A atividade da superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) foi determinada de acordo com metodologia proposta por Beauchamp e Fridovich (1971), preparada ao abrigo da luz. Ao extrato enzimático (50 µL) foi adicionado 2000 µL da solução tampão fosfato de sódio (50 mmol L⁻¹, pH 7,8), 250 µL metionina (13 mmol L⁻¹) + cloreto de azul de p-nitrotetrazólio (NBT, 75 µmol L⁻¹), 250 µL riboflavina (2 µmol L⁻¹), 200 µL EDTA (100 nmol L⁻¹). A reação foi conduzida à temperatura ambiente sob

iluminação por 10 minutos. A inibição na redução fotoquímica do NBT foi avaliada em espectrofotômetro a 560 nm e a atividade específica da enzima foi expressa em U mg^{-1} de proteína.

A atividade da peroxidase (PODs, EC 1.11.1.7) foi determinada de acordo com metodologia proposta por Teisseire e Guy (2000). O sistema de reação foi composto por 30 μL de extrato enzimático, 500 μL de tampão fosfato de potássio (50 mmol L^{-1} , pH 6,5), 250 μL de pirogalol (1,2,3-benzenotriol 20 mmol L^{-1}) e 220 μL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 5 mmol L^{-1} , totalizando um volume final de 1000 μL . A reação foi conduzida à temperatura ambiente por 5 minutos. A formação de purpurogalina foi medida em espectrofotômetro a 430nm. Para calcular a atividade específica da enzima, foi utilizado o seu coeficiente de extinção molar (2,5 $\text{mmol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), e a atividade foi expressa em μmol de purpurogalina $\text{min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína.

A atividade da catalase (CAT, EC 1.11.1.6) foi determinada de acordo com metodologia proposta por Peixoto et al. (1999). Ao extrato enzimático (100 μL) foi adicionado 1900 μL de solução tampão fosfato de potássio (50 mmol L^{-1} , pH 7,0) suplementado com peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , 12,5 mmol L^{-1}). A reação foi conduzida à temperatura ambiente por 80 segundos. As leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro a 240 nm, aos 0 e 80 segundos. Para calcular a atividade específica da enzima, foi utilizado o coeficiente de extinção molar do H_2O_2 (39,4 $\text{mmol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e a atividade foi expressa em nmol de H_2O_2 consumido $\text{min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

A quantificação das proteínas totais no extrato foi determinada de acordo com metodologia proposta por Bradford (1976). O sistema de reação foi composto por 100 μL de extrato enzimático e 5000 μL reativo de Bradford. A reação foi conduzida à temperatura ambiente por 15 minutos e a leitura de absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 595nm. Foi utilizada solução de caseína para confecção da curva padrão.

A peroxidação de lipídios (TBAR) foi determinada de acordo com técnica descrita por Heath e Packer (1968) apud Rama Devi e Prasad (1998). Foram utilizadas 200 a 300mg do fruto (albedo + polpa) congelado e macerados em nitrogênio líquido. A amostra foi homogeneizada em 5 mL de solução contendo ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,25% e ácido tricloroacético (TCA) 10%. Em seguida, a solução extraída foi incubada em banho-maria a 90°C por 60 minutos. Depois de resfriada, a solução foi centrifugada a 10000 x g por 15 minutos (25°C). O sobrenadante coletado de cada amostra

foi submetido a leituras de absorvância em espectrofotômetro a 560 e 600 nm. Utilizou-se o coeficiente de extinção molar do malondialdeído ($155 \text{ mmol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) para os cálculos.

4.3.3 Análise de resíduo

Para a detecção do produto e seus metabólitos nos frutos ao longo do armazenamento, as amostras foram coletadas por tratamento a cada sete dias. Essas amostras foram compostas por 12 frutos (aproximadamente 2 kg) cada (Figura 9) e congeladas em freezer comum e, posteriormente, encaminhadas para processamento ao GENCS - Global Environmental e Consumer Safety Laboratory no município de Guaratinguetá/SP.

O método utilizado para análise foi o L0076/09, sendo a determinação dos resíduos realizada por cromatografia líquida, detector de massa/massa (LC/MS/MS) e padronização externa. Os resíduos de piraclostrobina e seu metabólito 500M07 foram extraídos com metanol, água e HCl (2 mol L^{-1}). Os cálculos dos resíduos foram realizados a partir da curva de calibração em que foram injetadas as amostras em estudo, o limite de quantificação (LOQ) do método é $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$ e o limite de detecção (LOD) equivalente a 20% do limite de quantificação ($0,002 \text{ mg kg}^{-1}$). Os níveis de fortificação $0,1$ e $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ foram usados para determinar as recuperações das amostras testemunhas fortificadas com piraclostrobina e 500M07 no grupo de análise.



Figura 9. Amostras para análise de resíduo dos produtos aplicados. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

4.5 Análises estatísticas

Para a verificação da homogeneidade das variâncias dos tratamentos, foi utilizado o teste de Levene, com ajuda do programa estatístico SAS 9.2. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F). Para as análises físico-químicas as médias foram comparadas pelo teste Tukey, a 5% de significância nas parcelas (tratamentos) e análise de regressão nas subparcelas (tempo de armazenamento), sendo os modelos escolhidos com base na significância do coeficiente de determinação. Nas análises bioquímicas as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de significância nas parcelas e subparcelas e análise de regressão, quando adequado.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises físico-químicas

Na Tabela 2, os valores apresentados indicam que o rendimento de suco nos frutos foi influenciado significativamente pelos tratamentos, sem, no entanto, apresentar interação com o tempo de armazenamento (Figura 10) nas duas temperaturas estudadas (ambiente e refrigerado). Maiores rendimentos de suco foram observados nos tratamentos em que a piraclostrobina foi aplicada em pré-colheita e [pré + pós-colheita] enquanto os tratamentos em que a piraclostrobina foi aplicada somente em pós-colheita, independente da dose, não diferiram do tratamento controle (testemunha). Os frutos tratados com a dose 0,015 mL/L apresentaram maior rendimento de suco dos que os tratados na dose 0,010 mL/L. Esses resultados sugerem que o efeito da piraclostrobina nessa característica está relacionado com a aplicação da molécula ainda na planta, e que, a quantidade de molécula (dose + quantidade de aplicações) nos frutos é diretamente proporcional ao aumento no rendimento de suco. Esse fato pode estar relacionado à maior eficiência no uso da água promovido pela piraclostrobina, uma vez que, a planta ao utilizar menos água para suas funções vitais, pode direcionar maior quantidade para o fruto. Vários autores (GROSSMANN e RETZLAFF, 1997; GROSSMANN et al.,1999; RAMOS, 2013) relacionam a aplicação de piraclostrobina com aumentos expressivos na concentração

endógena de ácido abscísico (ABA) e citocinina, influenciando o equilíbrio hormonal das plantas tratadas. Köehle et al., (1994) relata que o aumento nos níveis endógenos de ácido abscísico (ABA) permite a adaptação da planta a situações de estresse hídrico, aumentando a eficiência do uso de água. Jadoski (2012), ao estudar os efeitos fisiológicos da piraclostrobina em plantas de feijão condicionado sob diferentes tensões de água no solo, observou que as médias de eficiência no uso da água aumentaram com a aplicação de piraclostrobina e evidenciou este fato ao correlacionar menor eficiência de uso da água com aumento da transpiração. Segundo o mesmo autor, plantas tratadas com piraclostrobina apresentaram menor transpiração quando comparadas com plantas não tratadas sob mesmas condições hídricas. No presente trabalho, em todos os tratamentos utilizados e nas duas condições estudadas, os frutos apresentaram percentual de suco superior ao exigido pelo mercado *in natura*, que segundo Salibe (1977) deve estar acima de 35% e apresentaram valores de acordo com mínimo exigido pela indústria, que conforme Koller (1994) deve ser de 40%.

Tabela 2. Valores de rendimento de suco (%) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e sob refrigeração (8 ± 1 °C e 92 ± 2% de UR) por 36 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

Tratamentos	% Suco	
	Ambiente	Refrigerado
Testemunha	54,44 c	52,33 bcd
Imazalil 5 mL/L	53,04 c	51,38 cd
Piraclostrobina 0,010 mL/L pré-colheita	58,03 b	54,00 bc
Piraclostrobina 0,010 mL/L [pré + pós-colheita]	57,71 b	54,26 b
Piraclostrobina 0,010 mL/L pós-colheita	54,65 c	52,65 bcd
Piraclostrobina 0,015 mL/L pré-colheita	60,10 ab	57,98 a
Piraclostrobina 0,015 mL/L [pré + pós-colheita]	61,55 a	58,98 a
Piraclostrobina 0,015 mL/L pós-colheita	52,3 c	51,17d
F _{tratamento}	34,56 ^{**}	25,33 ^{**}
F _{tempo}	172,03 ^{**}	2,47 ^{ns}
F _{tratamento X tempo}	0,87 ^{ns}	0,62 ^{ns}
CV _{tratamento} (%)	4,41	4,31
CV _{tempo} (%)	4,62	5,63

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

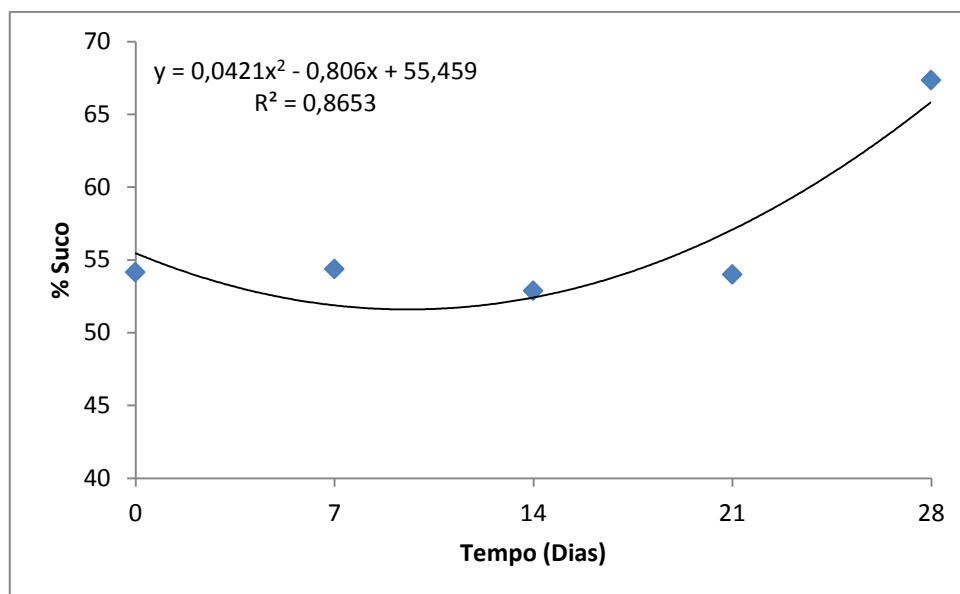


Figura 10. Valores de rendimento de suco (%) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

Os teores de sólidos solúveis (SS) nos frutos de laranja natal diferiram significativamente em função dos tratamentos aplicados (Tabela 3), contudo não apresentaram interação com o tempo de armazenamento (Figura 11) em nenhuma das duas condições avaliadas. Segundo Chitarra e Chitarra (2005) o teor de SS indica a quantidade dos sólidos que se encontram dissolvido no suco ou na polpa dos frutos, sendo utilizado como medida direta do teor de açúcares, uma vez que aumenta de valor à medida que esses teores vão se acumulando no fruto.

Os valores apresentados mostram que os tratamentos em que a piraclostrobina foi aplicada em pré-colheita tiveram valores de SS superiores aos tratamentos aplicados somente em pós-colheita, independente da dose utilizada, sugerindo que a eficiência da piraclostrobina está relacionada a alterações na fisiologia da planta, promovendo aumento da assimilação de carbono pelas folhas e maior translocação de fotoassimilados para os frutos. Estudos realizados por Macedo (2012) com melão rendilhado comprovam a relação entre aumento dos SS nos frutos provenientes de plantas tratadas com piraclostrobina e maior taxa de assimilação de CO₂ nessas plantas. Fagan (2007) também verificou que com a aplicação de piraclostrobina na cultura da soja, houve aumento da taxa de assimilação de CO₂. Köehle et al. (1994) e Ypema; Gold, (1999) afirmam que o efeito fisiológico observado é resultante do aumento da fotossíntese líquida (fotossíntese total, menos a respiração, mais a fotorrespiração), pois a piraclostrobina reduz

temporariamente a respiração das plantas, o que provoca menor perda de carbono, gerando mais energia para a planta.

Para os tratamentos em que a piraclostrobina foi aplicada pós-colheita os valores de SS não diferiram entre si e do tratamento controle e atribui-se a esse fato, principalmente, o padrão de maturação do fruto cítrico. Esses frutos, denominados não-climatericos, devem permanecer na planta-mãe até o final da maturação, pois não são capazes de completar o processo de amadurecimento quando colhidos imaturos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Koller (2006) ao estudar frutos produzidos por laranjeira-de-umbigo ‘Monte Parnaso’ com aplicação de reguladores vegetais encontrou valores inferiores aos observados nesse trabalho. Agostini et al. (2014) relatam que os teores de SS em laranjas ‘Champagne’ não foram influenciados pelo tempo de estocagem e pelos recobrimentos utilizados, sendo que os valores médios obtidos foram de 12,02, 11,88 e 11,81 °Brix para frutos estocados a 3, 8 e 25°C, respectivamente. Brackmann et al. (1999) e Kluge et al. (2007), trabalhando com laranjas ‘Valência’, também não constataram diferenças estatísticas significativas no teor de SS durante 60 dias de armazenamento, em contrapartida, Cantillano et al. (2009) afirma que o teor de SS de laranjas ‘Salustina’ sob atmosfera modificada durante o armazenamento refrigerado diminuiu entre 30 e 90 dias de armazenamento.

Para Chitarra e Chitarra (2005), os valores de SS observados neste trabalho estão adequados para frutos cítricos já que considera apropriado para “frutos de vez” teores de 10,35 °Brix e para frutos maduros, 11,37 °Brix. Vale salientar que na região onde o estudo foi realizado, existe grande dificuldade de acúmulo de sólidos solúveis nos frutos devido a temperaturas amenas e constantes e que, essa região vem se tornando cada vez mais expressiva na produção de citros, devido à dizimação dos pomares do norte do Estado de São Paulo causada entre outros fatores, pelo “Greening” (Huanglongbing-HLB).

Tabela 3. Valores de sólidos solúveis em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e sob refrigeração (8 ± 1 °C e 92 ± 2% de UR) por 36 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

Tratamentos	Sólidos Solúveis (°Brix)	
	Ambiente	Refrigerado
Testemunha	9,61 b	9,52 b
Imazalil 5 mL/L	9,49 b	9,41 b
Piraclostrobina 0,010 mL/L pré-colheita	11,32 a	11,25 a
Piraclostrobina 0,010 mL/L [pré + pós-colheita]	11,25 a	10,78 a
Piraclostrobina 0,010 mL/L pós-colheita	9,42 b	9,48 b
Piraclostrobina 0,015 mL/L pré-colheita	10,87 a	10,56 a
Piraclostrobina 0,015 mL/L [pré + pós-colheita]	11,03 a	10,83 a
Piraclostrobina 0,015 mL/L pós-colheita	9,47 b	9,22 b
$F_{\text{tratamento}}$	50,42**	18,79**
F_{tempo}	3,08*	5,30*
$F_{\text{tratamento X tempo}}$	1,23 ^{ns}	1,42 ^{ns}
$CV_{\text{tratamento}}(\%)$	5,36	7,29
$CV_{\text{tempo}}(\%)$	5,95	7,43

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

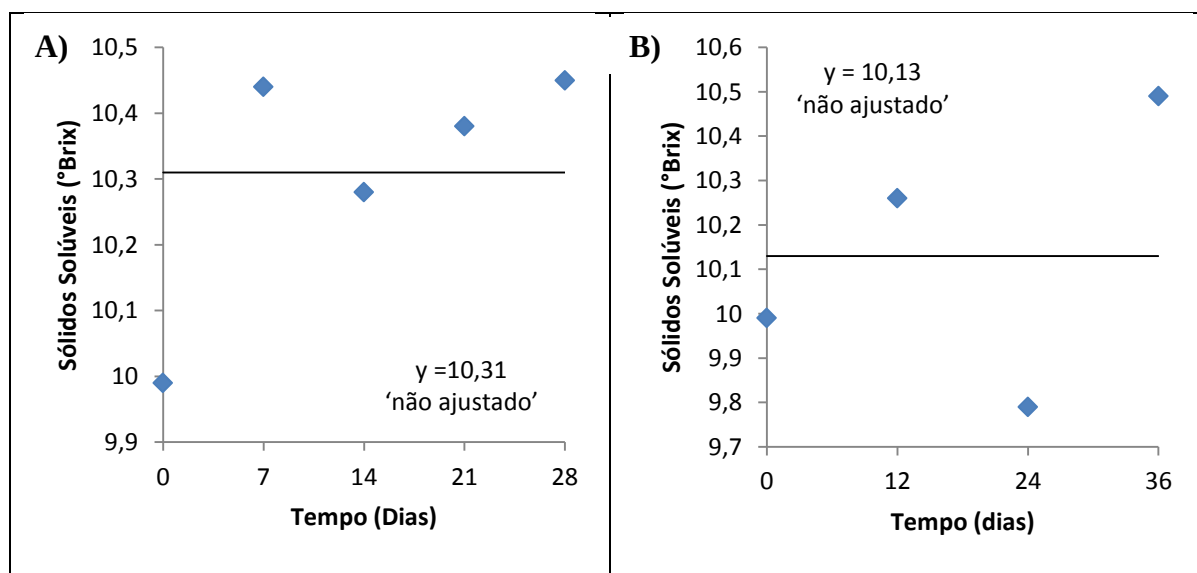


Figura 11. Valores médios de sólidos solúveis em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em: A) temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e; B) sob refrigeração (8 ± 1 °C e 92 ± 2% de UR) por 36 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

Para a acidez titulável, os tratamentos testados não apresentaram diferenças significativas nos frutos armazenados em temperatura ambiente apresentando valores médios entre 0,64 e 0,73g de ácido cítrico 100 mL de suco⁻¹ e para os frutos armazenados sob refrigeração, embora tenham apresentado diferença estatística significativa, somente o tratamento em que a piraclostrobina foi aplicada em pós-colheita na dose 0,015mLl⁻¹, diferiu do tratamento controle (Tabela 4).

Os valores observados nesse estudo foram inferiores aos encontrados por Duenhas et al. (2002) analisando frutos de laranjas ‘Valência’, nos quais obtiveram variação de 1,88 a 2,00 mg de ácido cítrico 100 mL de suco⁻¹, semelhantes aos encontrados por Duarte et al. (2011) estudando o efeito da carga pendente na mesma variedade (0,68 e 0,72mg de ácido cítrico 100 mL de suco⁻¹) e atendem melhor as exigências do mercado de fruta ‘*in natura*’ que segundo Montenegro (1958), prefere acidez titulável menor que 1%, enquanto para a indústria a acidez titulável do fruto deve ser maior que 1%.

Sabe-se que os teores de ácidos orgânicos nos frutos são influenciados por vários fatores, entre eles o estágio de maturação, nutrição e condições climáticas. Após o amadurecimento, durante a colheita e no armazenamento, a quantidade de ácidos orgânicos tende a cair, em função dos processos respiratórios, fazendo com que vários substratos sejam utilizados no ciclo de Krebs, como forma de geração de energia para a manutenção dos processos vitais das frutas (CHITARRA; CHITARRA, 2005). KAYS (1991) afirma que após a colheita e durante o armazenamento, a concentração de ácidos orgânicos tende a declinar na maioria dos frutos, em consequência da utilização desses compostos como substrato respiratório e como esqueletos de carbono para a síntese de novos compostos. Contudo, diferentemente do observado por vários autores em estudos envolvendo armazenamento de frutos cítricos, como limões sicilianos (HENRIQUE e CEREDA, 2007); laranjas ‘Valência’ (ERKAN et al., 2005); citros ‘Nova’ (MALGARIN et al. 2008); laranja ‘Salustiana’ (CANTILLANO et al., 2009), e laranja sanguínea (RAPISARDA et al., 2001; LATADO et al., 2008), que confirmaram essa reduções no teor de acidez, no presente trabalho, para os frutos armazenados sob refrigeração, foi observado aumento no teor de acidez ao longo do período de armazenamento (Figura 12), ajustando-se modelo de regressão polinomial para expressar essa característica.

Tal fato pode estar relacionado à menor respiração dos frutos provocados pela piraclostrobina, uma vez que, segundo Bartlett et al. (2002) as estrobilurinas são conhecidas como fungicidas inibidores da quinona oxidase (Qo) e provocam inibição da cadeia respiratória, impedindo a cadeia bioquímica de transferência de elétrons no sítio da mitocôndria.

Tabela 4. Valores de acidez titulável em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e sob refrigeração (8 ± 1 °C e 92 ± 2% de UR) por 36 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

Tratamentos	Acidez Titulável(% ácido cítrico)	
	Ambiente	Refrigerado
Testemunha	0,73	0,71 abc
Imazalil 5 mL/L	0,64	0,66 cd
Piraclostrobina 0,010 mL/L pré-colheita	0,69	0,73 ab
Piraclostrobina 0,010 mL/L [pré + pós-colheita]	0,65	0,68abc
Piraclostrobina 0,010 mL/L pós-colheita	0,67	0,75 a
Piraclostrobina 0,015 mL/L pré-colheita	0,68	0,72 abc
Piraclostrobina 0,015 mL/L [pré + pós-colheita]	0,67	0,67 bcd
Piraclostrobina 0,015 mL/L pós-colheita	0,64	0,64d
F _{tratamento}	1,68 ^{ns}	7,66 ^{**}
F _{tempo}	1,25 ^{ns}	5,11 [*]
F _{tratamento X tempo}	0,75 ^{ns}	0,78 ^{ns}
CV _{tratamento} (%)	15,65	7,98
CV _{tempo} (%)	13,50	10,02

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

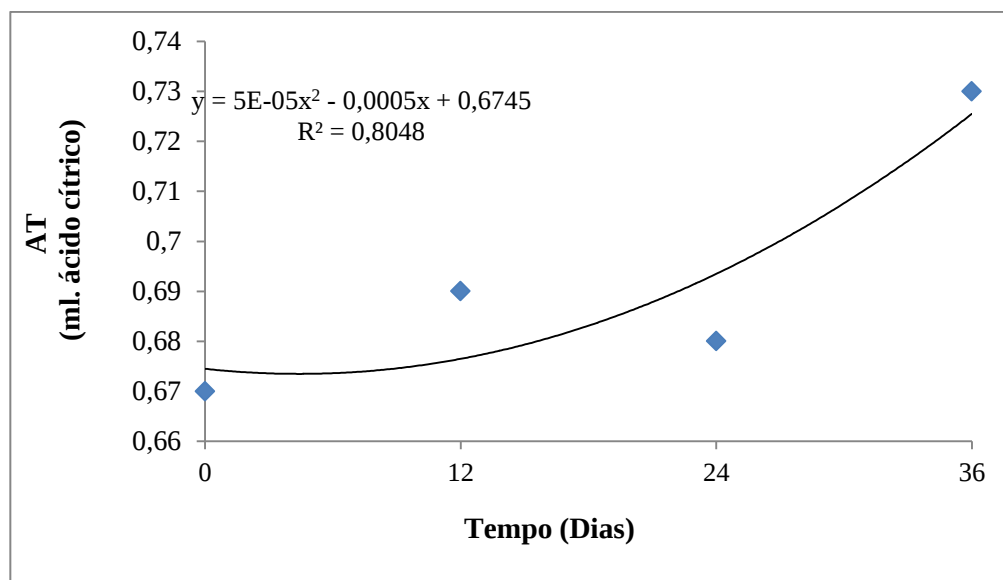


Figura 12. Valores médios de acidez titulável (mL de ácido cítrico 100 mL⁻¹ suco) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados sob refrigeração (8 ± 1 °C e $92 \pm 2\%$ de UR) por 36 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

Os frutos cítricos apresentam uma quantidade de ácidos orgânicos que, em balanço com os teores de açúcares, representam um importante atributo de qualidade (LADANIYA, 2008). Segundo Volpe et al. (2002) é o método de avaliação utilizado para determinar a maturidade e a época de colheita desses frutos.

A Tabela 5 mostra que a relação SS/AT (*ratio*) variou significativamente em função dos tratamentos aplicados, tanto nos frutos armazenados em temperatura ambiente, quanto nos armazenados sob refrigeração e ao longo do período de armazenamento decresceram significativamente apenas nos frutos sob refrigeração (Figura 13) de acordo com os valores crescente de acidez titulável.

Para os frutos armazenados em temperatura ambiente, o maior valor de *ratio* foi observado nos frutos provenientes do tratamento em que a piraclostrobina foi aplicada em [pré + pós-colheita] na dose 0,010 mL L⁻¹ enquanto o menor valor foi encontrado no tratamento controle (17,50 e 13,57 respectivamente). Já nos frutos armazenados sob refrigeração os tratamentos em que a piraclostrobina foi aplicada em pré-colheita na dose 0,010 mL L⁻¹ e [pré +pós-colheita] nas doses 0,010 e 0,015 mL L⁻¹ foram superiores ao tratamento controle (13,50), apresentando valores médios 16,01 e 16,20 respectivamente. Tomazetti (2013) estudando indutor de resistência na pós-colheita de laranjas ‘Salusiana’ encontrou valores inferiores (8,5) aos encontrados nesse estudo e Cantillano et al., (2009), ao estudar a qualidade pós-colheita de laranjas cv. Salustiana sob

atmosfera modificada durante o armazenamento refrigerado, não observou diferenças entre o *ratio* de frutos armazenados sob refrigeração e em temperatura ambiente, discordando dos resultados obtidos nesse trabalho. Para Chitarra (2005) frutos cítricos maduros possuem *ratio* 11,4 e Donadio et al. (1999) afirmam que na faixa entre 13 e 16 se obtém melhores rendimentos de suco. Segundo Santos et al. (2010) o '*ratio*' pode variar conforme a época de colheita, região e variedade.

Para o mercado interno e externo, o *ratio* das laranjas varia de acordo com as zonas produtoras, sendo indicado desde *ratio* mínimo de 6,5 e máximo de 15,4 para frutos de consumo 'in natura', sendo o mais recomendado entre 8,8 e 15,4 e *ratio* mínimo de 10,0 e máximo de 18,0 para frutos destinados a indústria, sendo o mais recomendado entre 15,0 e 18,0 (SALIBE, 1977; CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Tabela 5. Valores de *ratio* em frutos de laranja 'Natal' tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e sob refrigeração (8 ± 1 °C e 92 ± 2% de UR) por 36 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

Tratamentos	Ratio (SS/AT)	
	Ambiente	Refrigerado
Testemunha	13,57 b	13,50 cd
Imazalil 5 mL/L	14,92 ab	14,37 bcd
Piraclostrobina 0,010 mL/L pré-colheita	16,40 ab	15,55 ab
Piraclostrobina 0,010 mL/L [pré + pós-colheita]	17,50 a	16,01 ab
Piraclostrobina 0,010 mL/L pós-colheita	15,07 ab	12,68 d
Piraclostrobina 0,015 mL/L pré-colheita	16,02 ab	14,77 abc
Piraclostrobina 0,015 mL/L [pré + pós-colheita]	16,70 ab	16,28 a
Piraclostrobina 0,015 mL/L pós-colheita	14,94 ab	14,41 bcd
F _{tratamento}	3,43*	10,62**
F _{tempo}	2,52 ^{ns}	0,67 ^{ns}
F _{tratamento X tempo}	1,21 ^{ns}	0,79 ^{ns}
CV _{tratamento} (%)	19,27	10,31
CV _{tempo} (%)	17,32	12,18

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

Os valores de pH variaram significativamente em relação aos tratamentos aplicados e ao tempo de armazenamento (Figura 13) sem, no entanto, ocorrer interação entre esses dois fatores. A Tabela 6 mostra que as médias encontradas variaram

entre 3,72 e 3,84 e, apesar de significativo, os tratamentos aplicados não diferiram do tratamento controle tanto para os frutos armazenados em temperatura ambiente quanto para os frutos armazenados sob refrigeração, com exceção, os frutos armazenados sob refrigeração no tratamento em que a piraclostrobina foi aplicada em pós-colheita na dose 0,010mL L⁻¹ que apresentaram valores inferiores. Segundo Bezerra e Gonçalves (2008), as variedades de laranja apresentaram pH diferentes por conterem quantidades distintas de ácidos. As variedades de laranja têm seu pH definido pelo ácido ascórbico em equilíbrio de massa com o ácido cítrico anidro, apesar disso, os valores de pH encontrados nesse trabalho assemelham-se ao encontrado também por Bezerra e Gonçalves (2008) para laranja ‘Pêra’ (3,75), enquanto Tavares (2000) encontrou valores mais baixos para a mesma variedade (3,60).

Tabela 6. Valores de pH em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e sob refrigeração (8 ± 1 °C e 92 ± 2% de UR) por 36 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

Tratamentos	pH	
	Ambiente	Refrigerado
Testemunha	3,79 ab	3,80ab
Imazalil 5 mL/L	3,82 a	3,80ab
Piraclostrobina 0,010 mL/L pré-colheita	3,77 ab	3,80ab
Piraclostrobina 0,010 mL/L [pré + pós-colheita]	3,78 ab	3,76abc
Piraclostrobina 0,010 mL/L pós-colheita	3,72 b	3,72c
Piraclostrobina 0,015 mL/L pré-colheita	3,72 b	3,73bc
Piraclostrobina 0,015 mL/L [pré + pós-colheita]	3,76 ab	3,76abc
Piraclostrobina 0,015 mL/L pós-colheita	3,84 a	3,84 ^a
F _{tratamento}	4,17 [*]	6,09 ^{**}
F _{tempo}	56,79 ^{**}	95,44 ^{**}
F _{tratamento X tempo}	0,86 ^{ns}	1,142 ^{ns}
CV _{tratamento} (%)	2,47	1,83
CV _{tempo} (%)	2,97	2,23

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

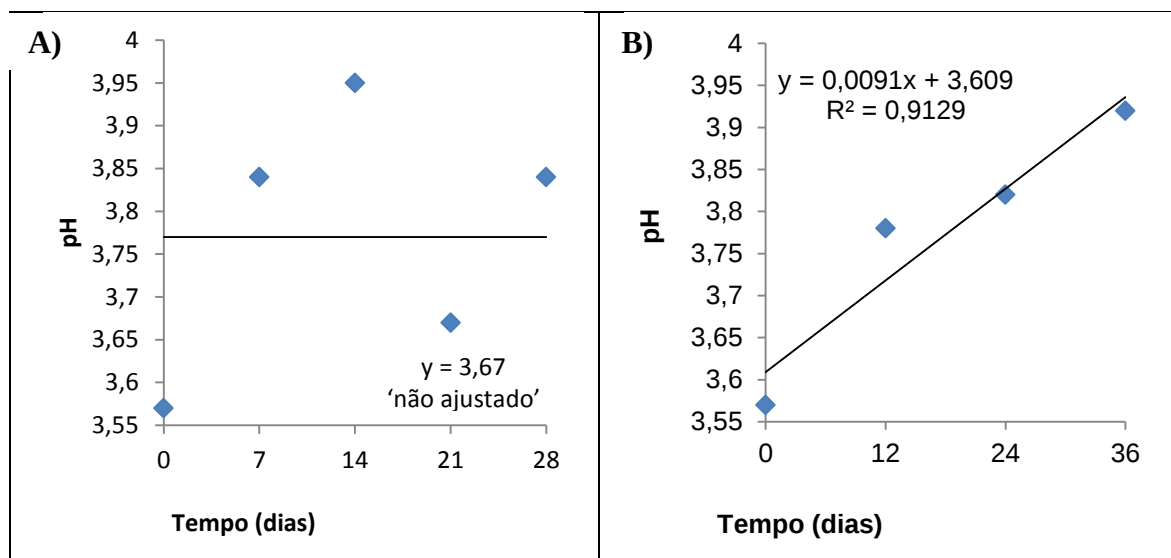


Figura 13. Valores de pH em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobin, armazenados em: A) temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e; B) sob refrigeração (8 ± 1 °C e 92 ± 2% de UR) por 36 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

A Figura 15 mostra a interação entre o índice tecnológico (IT) e tempo de armazenamento, para os frutos armazenados em temperatura ambiente. Os valores de IT aumentam com o passar do tempo, em todos os tratamentos estudados, esse fato pode estar relacionado às possíveis perdas transpiracionais já que esses frutos estiveram armazenados em temperatura ambiente sob ação das variações de temperatura e umidade relativa do ar. Segundo Assis (1999) as perdas por transpiração nos frutos após a colheita é acentuada pelo fato da água perdida não ser repostada pela planta, concentrando assim os sólidos solúveis, o mesmo autor afirma também que, a velocidade dessa perda depende da diferença de pressão de vapor de água entre o produto e o ambiente. A figura mostra ainda que todos os tratamentos que receberam aplicação de piraclostrobin pré-colheita, independente da dose, apresentaram valores de IT superiores, decorrentes do aumento do aumento de SS nos frutos, pois, segundo Duarte et al. (2011) o índice tecnológico é importante parâmetro para a produção de sucos concentrados e expressa à quantidade de sólidos solúveis por caixa de laranja (40,8 kg), qualificando assim a matéria-prima.

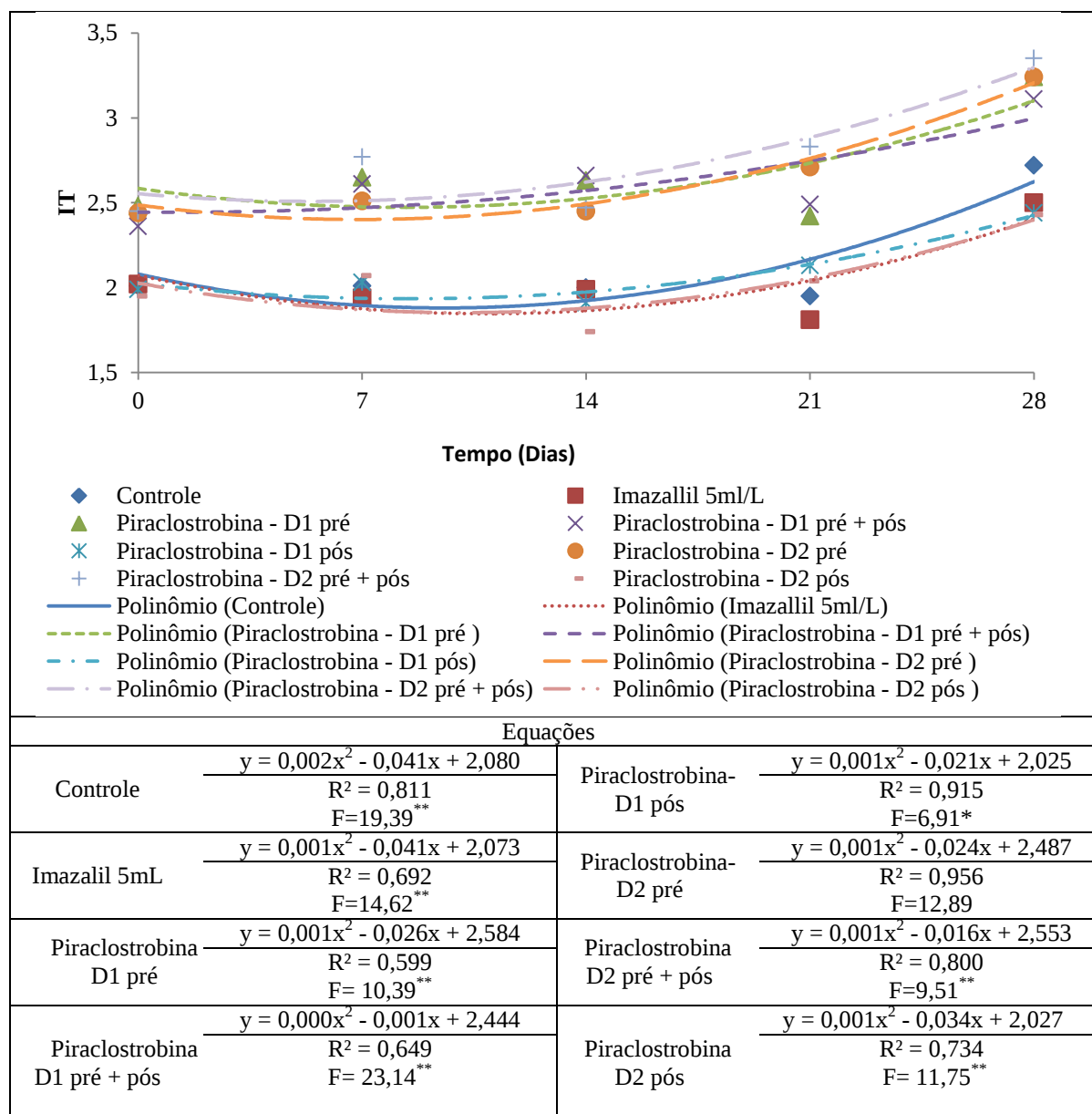


Figura 14. Valores de índice tecnológico em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016. D1= 0,010 mL L⁻¹ e D2= 0,015 mL L⁻¹. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

A Tabela 7 e a Figura 15 mostram valores de IT nos frutos armazenados sob refrigeração. Maiores valores foram observados nos tratamentos em que a piraclostrobina foi aplicada em pré-colheita e [pré+ pós-colheita], independente da dose, apresentando média de 2,52kg de SS caixa⁻¹. Valores esses, segundo Di giorgi et al.(1990), apropriados para laranjas cujo IT ideal varia de 2,49 a 2,86 kg de SS caixa⁻¹

Silva et al. (2006) estudando diferentes porta-enxertos para a variedade ‘Natal’ encontraram valores semelhantes (2,55) quando enxertadas sobre um híbrido de limão ‘Cravo’ e tangerina ‘Cleópatra’. Segundo Sinclair (1984) e Soule e Grierson (1986) o índice tecnológico, além de indicador da maturidade, pode ser utilizado como indicador da qualidade do fruto e a faixa prevista para as laranjas-doces ‘HamLin’, ‘Pêra’, ‘Natal’ e ‘Valência’, cultivares utilizados na indústria de suco concentrado, está entre 2,49 a 2,86 (DI GIORGI et al., 1990 e NONINO, 1995). Volpe et al. (2002), ressaltam que o índice tecnológico não constitui o resultado de uma medida e, sim, de um cálculo, cujos parâmetros são o teor de sólidos solúveis e o rendimento em suco, sendo, portanto, influenciado por todos os fatores que afetam esses parâmetros.

Tabela 7. Valores de índice tecnológico em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados sob refrigeração (8 ± 1 °C e $92 \pm 2\%$ de UR) por 36 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

Tratamentos	Índice Tecnológico
	Refrigerado
Testemunha	2,07 b
Imazalil 5 mL/L	2,01 b
Piraclostrobina 0,010 mL/L pré-colheita	2,49 a
Piraclostrobina 0,010 mL/L [pré + pós-colheita]	2,48 a
Piraclostrobina 0,010 mL/L pós-colheita	2,02 b
Piraclostrobina 0,015 mL/L pré-colheita	2,53 a
Piraclostrobina 0,015 mL/L [pré + pós-colheita]	2,60 a
Piraclostrobina 0,015 mL/L pós-colheita	1,94 b
$F_{\text{tratamento}}$	25,55**
F_{tempo}	7,07**
$F_{\text{tratamento X tempo}}$	1,18 ^{ns}
$CV_{\text{tratamento}}(\%)$	9,74
$CV_{\text{tempo}}(\%)$	9,65

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

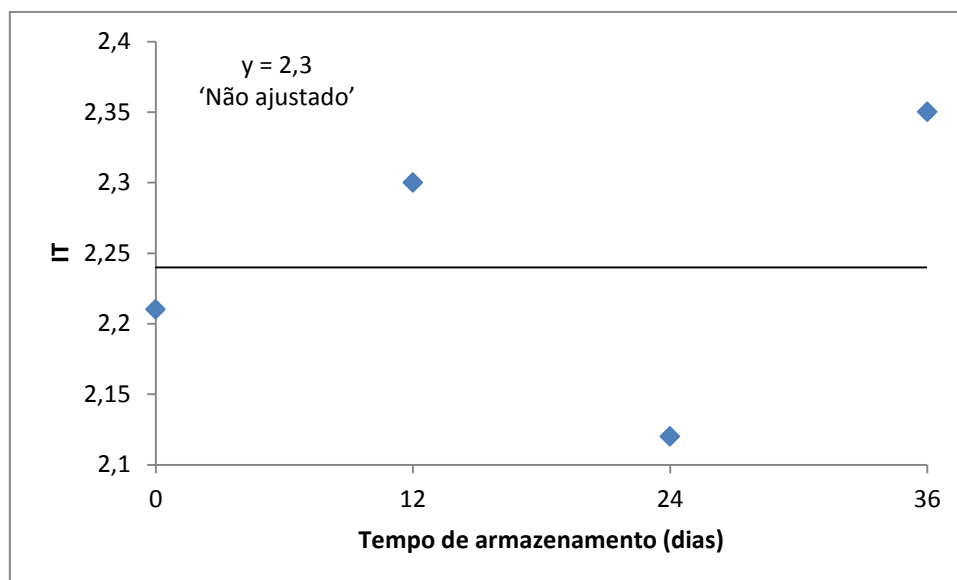


Figura 15. Valores de índice tecnológico em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados sob refrigeração (8 ± 1 °C e $92 \pm 2\%$ de UR) por 36 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

A Figura 16 mostra que embora significativo, ao longo do período para os frutos armazenados em temperatura ambiente os valores de RI pouco variaram, enquanto para os frutos armazenados sob refrigeração não houve a mesma constância. Segundo a CITRUSBR (2011) o RI é a principal característica que determina se a produção de laranja será destinada à fabricação do suco, pois essa é qualificada pela quantidade de sólidos solúveis adequado para o uso industrial, e que, o RI representa o número de caixas de laranja por tonelada de suco concentrado.

Desse modo, evidenciando que a piraclostrobina quando aplicada nos frutos ainda na planta pode promover um aumento significativo na qualidade dos frutos, os tratamentos que apresentaram melhores RI, ou seja, menor quantidade de caixas de laranja (40,8kg) para produzir uma tonelada de suco concentrado (66 °Brix), são os mesmo tratamentos que proporcionaram maiores valores de IT (piraclostrobina - pré-colheita e [pré + pós-colheita], independente da dose) (Tabela 8). Para os frutos provenientes desses tratamentos, armazenados em temperatura ambiente, seriam necessário em média 248,52 caixas de 40,8kg de frutos para produzir 1 tonelada de suco concentrado (66°Brix), enquanto o tratamento controle necessitaria de 314,92 caixas, uma redução de aproximadamente 67 caixas de laranja por tonelada de suco (FCOJ). Para os frutos armazenados sob refrigeração a redução média no número de caixas proporcionado pelos tratamentos com piraclostrobina foi de 59.

Tabela 8. Valores de rendimento industrial em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e sob refrigeração por 36 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

Tratamentos	Rendimento industrial (caixas ton ⁻¹ suco)	
	Ambiente	Refrigerado
Testemunha	314,92 a	326,44 a
Imazalil 5 mL/L	327,57 a	337,97 a
Piraclostrobina 0,010 mL/L pré-colheita	249,61 b	269,74 b
Piraclostrobina 0,010 mL/L [pré + pós-colheita]	252,60 b	279,07 b
Piraclostrobina 0,010 mL/L pós-colheita	318,77 a	326,14 a
Piraclostrobina 0,015 mL/L pré-colheita	250,53 b	267,99 b
Piraclostrobina 0,015 mL/L [pré + pós-colheita]	241,36 b	254,42 b
Piraclostrobina 0,015 mL/L pós-colheita	328,91 a	346,45 a
F _{tratamento}	50,60 ^{**}	22,19 ^{**}
F _{tempo}	38,42 ^{**}	5,34 ^{**}
F _{tratamento X tempo}	1,20 ^{ns}	0,753 ^{ns}
CV _{tratamento} (%)	8,79	10,35
CV _{tempo} (%)	9,50	10,38

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

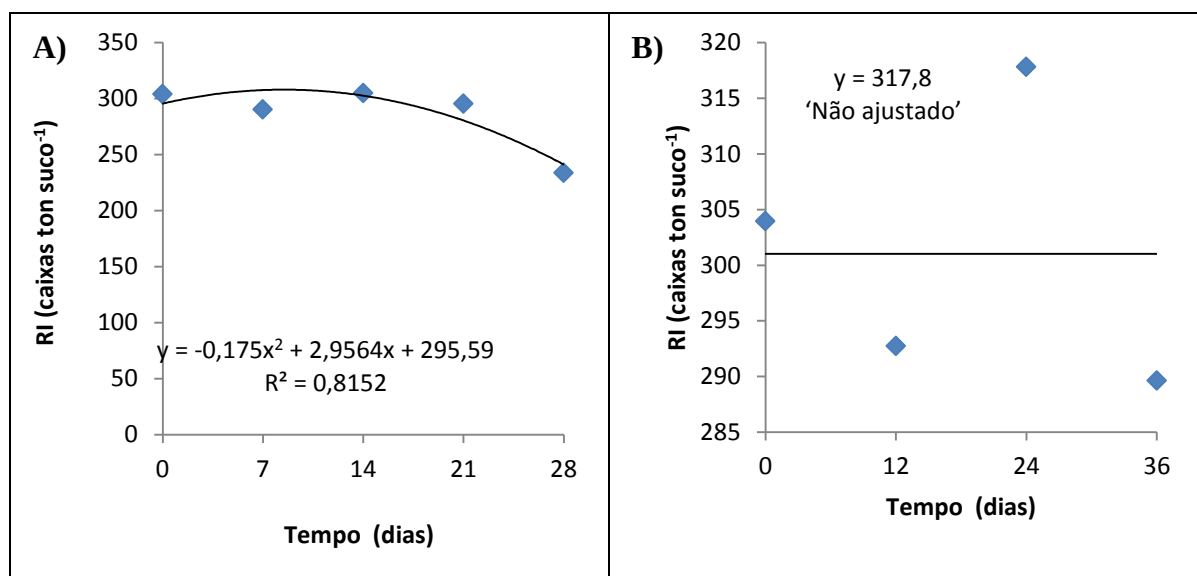


Figura 16. Valores de rendimento industrial em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em: A) temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e; B) sob refrigeração por 36 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

Houve interação significativa entre os tratamentos e os dias pós-colheita na perda de massa dos frutos, ajustando-se modelos de regressão linear para expressar essa característica (Figura 18). Não houve diferença significativa entre os tratamentos até o 12º dia (Tabela 9). Ao final do armazenamento maiores perdas de massa ocorreram nos tratamentos controle e Imazalil com média de 15,86%. Para os tratamentos com piraclostrobina, de maneira geral, menores perdas foram observadas nos frutos que receberam a piraclostrobina em [pré + pós-colheita]. As doses de 0,015 mL/L e 0,010 mL/L não diferiram entre si e apresentaram em média 11,59% menos massa nos frutos do que no momento da colheita. Agostini et al. (2014) observou perdas superiores a 15% em frutos de laranja ‘Champagne’ acondicionados sem embalagem e em frutos revestidos com fécula de mandioca aos 20 dias de armazenamento em temperatura ambiente (25 °C). Singh e Reddy (2006) verificaram que, após 17 dias de armazenamento de laranjas Nagpur Mandarin, as perdas de massa em condição ambiente (28°C e 58% UR) foram de 19,4%. Nascimento et al. (2006) também observaram que laranjas ‘Pêra’ armazenadas em condição ambiente por quatro semanas tiveram perdas que chegaram a 29%. De acordo com CHITARRA E CHITARRA (2005), os sintomas de murcha com prejuízo na aparência externa ocorrem quando a perda de massa ultrapassa 10%; note-se que, neste estudo, isso ocorreu após 16 dias de armazenamento para o tratamento controle e Imazalil enquanto para os tratamentos com piraclostrobina aplicada em pré-colheita e pós-colheita somente aos 20 dias e ainda, os tratamentos que receberam aplicação [pré + pós-colheita] essa situação só foi observada após os 24 dias de armazenamento.

A menor perda de massa nos frutos tratados com piraclostrobina é atribuída à capacidade dessa molécula em reduzir a respiração mitocondrial dos fungos, que pode ser estendida a folhas e frutos. As estrobilurinas atuam na respiração mitocondrial bloqueando a transferência de elétrons pelo complexo citocromico bc1, entre o citocromo b e o citocromo c1, no sítio Qo (BARLETT et al., 2001), através da inibição da óxido-redutase de ubihidroquinona-citocromo c (GHINI e KIMATI, 2002), reduzindo o processo respiratório, bloqueando o fornecimento de energia das células do fungo e levando à sua morte. O fato das aplicações pré-colheita também influenciarem de forma positiva a perda de massa pode estar relacionado ao amadurecimento não-climatérico dos frutos cítricos, que tendem a manter a respiração dos frutos na pós-colheita com poucas alterações.

Segundo Vale et al. (2006) a perda de massa está intimamente ligada à deterioração, uma vez que resulta não somente em perdas quantitativas, mas também no

prejuízo da aparência (murchamento e enrugamento), na qualidade textural (amaciamento, perda do frescor e suculência) e na qualidade nutricional.

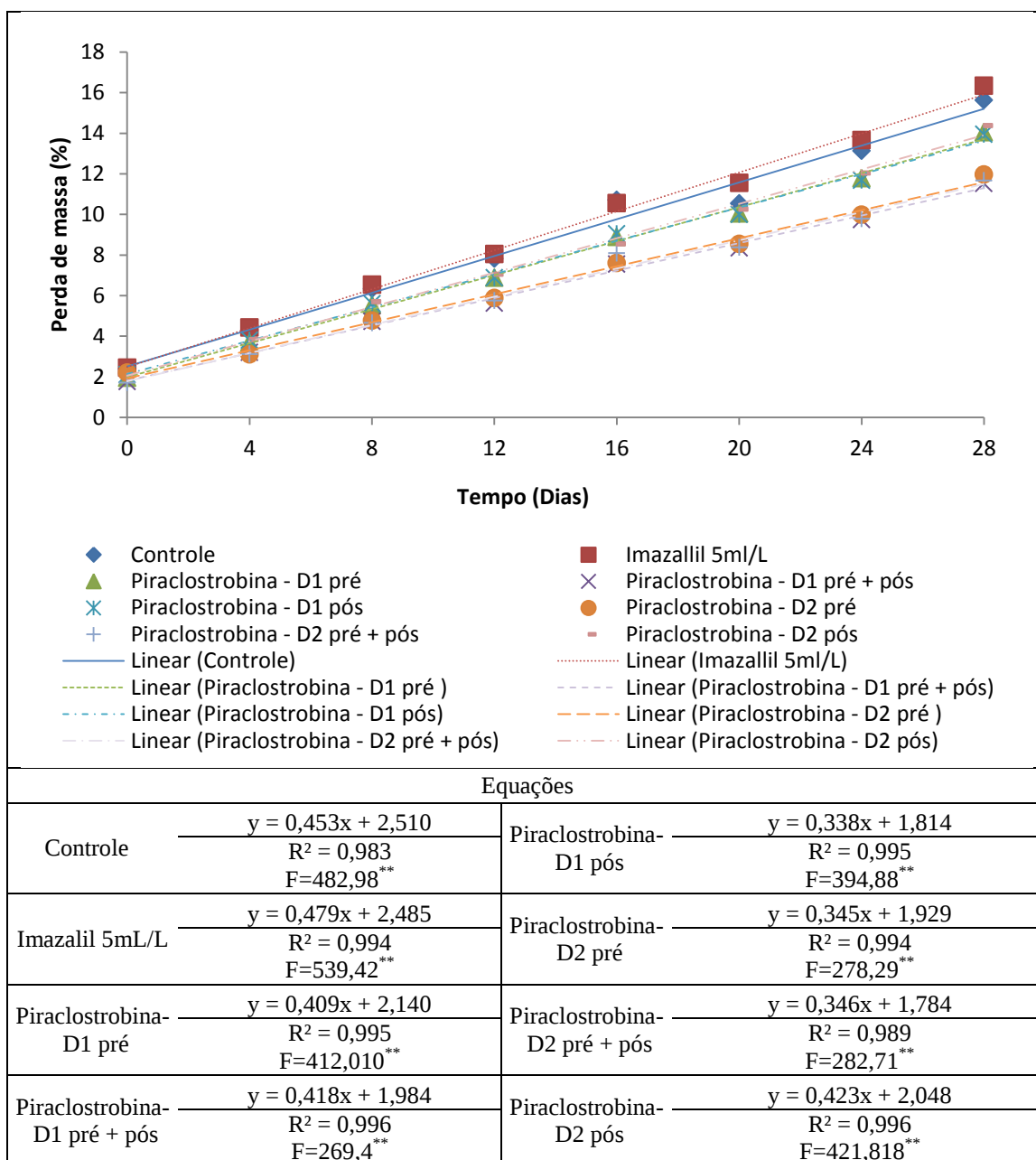


Figura 17. Valores de perda de massa (%) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016. D1= 0,010 mL.L⁻¹ e D2= 0,015 mL.L⁻¹. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

Tabela 9. Valores de perda de massa (%) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

Tratamentos	Avaliações (dias)							
	0	4	8	12	16	20	24	28
Testemunha	2,39	4,3	6,34	7,82 a	10,71 a	10,54 ab	13,13 a	15,63 a
Imazalil 5 mL/L	2,45	4,42	6,53	8,05 ab	10,55 a	11,55 a	13,66 a	16,34 a
Piraclostrobina 0,010 mL/L pré-colheita	1,94	3,68	5,54	6,87 b	8,89 ab	10,04 ab	11,78 ab	14,04 abc
Piraclostrobina 0,010 mL/L [pré + pós-colheita]	1,76	3,2	4,73	5,62 a	7,54 b	8,35 b	9,74 b	11,53 d
Piraclostrobina 0,010 mL/L pós-colheita	2,10	3,8	5,59	6,88 ab	9,04 ab	10 ab	11,68 b	13,95 abcd
Piraclostrobina 0,015 mL/L pré-colheita	2,20	3,18	4,77	5,88 ab	7,61 b	8,55 b	9,99 b	11,97 bcd
Piraclostrobina 0,015 mL/L [pré + pós-colheita]	1,70	3,11	4,66	5,75 ab	8,09 b	8,37 b	9,78 b	11,66 cd
Piraclostrobina 0,015 mL/L pós-colheita	2,07	3,82	5,7	7,05 ab	8,54 b	10,26 b	12,03 b	14,38 ab
$F_{\text{tratamento}}$					4,79*			
F_{tempo}					1395,38**			
$F_{\text{tratamento} \times \text{tempo}}$					3,43**			
$CV_{\text{tratamento}}(\%)$					33,41			
$CV_{\text{tempo}}(\%)$					7,74			

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

Para os valores de ácido ascórbico (AA) houve interação significativa entre os tratamentos realizados e o tempo de armazenamento, tanto para temperatura ambiente quanto para refrigerada, ajustando-se a modelos de regressão linear. A Figura 18 indica ligeiro aumento no teor de AA, durante os dois períodos de armazenamentos estudados, nos frutos que receberam a piraclostrobina em pré-colheita na dose 0,010mL L⁻¹ e em pós-colheita na dose 0,015mL l⁻¹ evidenciando também a atuação da molécula nessa característica.

A Tabela 10 mostra que os teores de AA nos frutos variaram significativamente apenas aos 14 dias para frutos armazenados sob temperatura ambiente e aos 24 dias para os frutos armazenados sob refrigeração. O tratamento que proporcionou maiores teores de AA quando comparado ao tratamento controle, tanto em temperatura ambiente quanto sob refrigeração foi no qual a piraclostrobina foi aplicada na maior dose em [pré + pós-colheita].

Estudos realizados por Ceretta et al. (1999); Rapisarda et al. (2001) e Vale et al. (2006) afirmam que o teor de AA tende a se manter constante ou ocorrem pequenas perdas, geralmente não significativa durante o armazenamento de frutos cítricos sob diferentes condições. Outros trabalhos evidenciam a redução nos teores de AA, como observado em tangerinas ‘Ponkan’ (LIMA et al., 1999), laranja ‘Valência’ (KLUGE et al., 2007) e laranjas ‘Salustiana’ (CANTILLANO et al., 2009).

Agostini et al. (2014), relacionam ainda, perdas de AA com maiores temperatura de armazenamento e Gardner et al. (2000) concordam sugerindo que frutos expostos à maior temperatura devem ter iniciado mais precocemente sua senescência, consumindo o ácido ascórbico em reações oxidativas. Kluge et al. (2002), no entanto, confirmaram que poucas alterações no conteúdo vitamínico dos frutos ocorrem no armazenamento de frutos inteiros, concordando, em partes, com os dados obtidos nesse trabalho, onde os resultados foram semelhantes para as duas condições de armazenamento estudada.

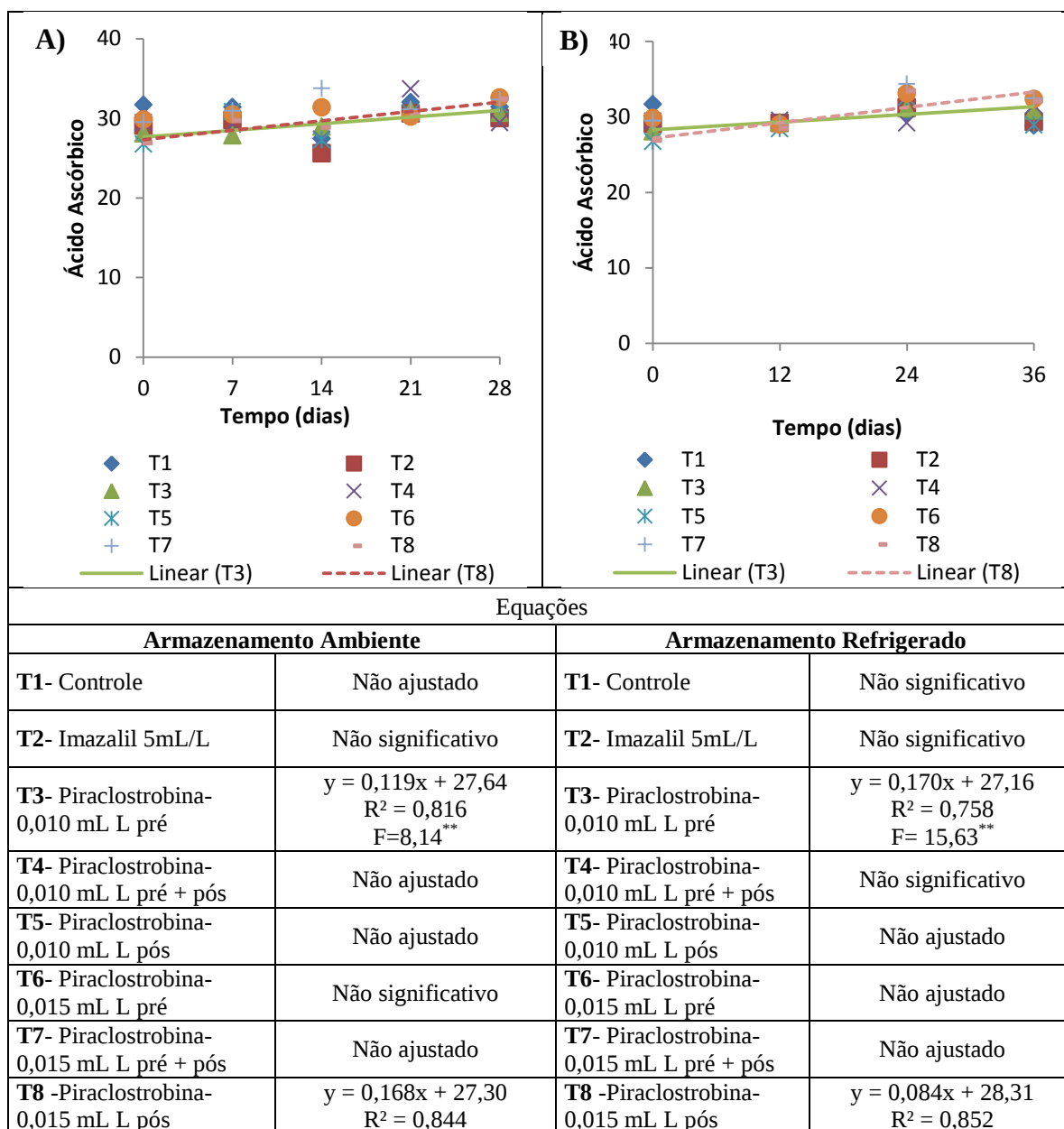


Figura 18. Valores de ácido ascórbico ($\text{mg } 100 \text{ mL}^{-1}$) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em: A) temperatura ambiente ($21,3\text{-}28,9^\circ \text{C}$ e UR 62,4%) por 28 dias e; B) sob refrigeração ($8 \pm 1^\circ \text{C}$ e $92 \pm 2\%$ de UR) por 36 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

Tabela 10. Valores de ácido ascórbico (mg 100 mL⁻¹) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e sob refrigeração (8 ± 1 °C e 92 ± 2% de UR) por 36 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

Tratamentos	Ácido Ascórbico (mg 100 mL ⁻¹)						
	Armazenamento Ambiente				Armazenamento refrigerado		
	7	14	21	28	12	24	36
Testemunha	31,42	27,44bc	32,02	31,44	28,94	30,44bc	28,84
Imazalil 5mL/L	29,76	25,61c	30,6	30,02	29,19	31,27abc	29,34
Piraclostrobina 0,010 mL/L pré-colheita	27,86	28,94bc	31,02	30,69	29,27	31,1abc	30,85
Piraclostrobina 0,010mL/L [pré + pós-colheita]	29,27	27,36bc	33,68	29,44	29,52	29,19c	31,52
Piraclostrobina 0,010 mL/L pós-colheita	30,84	27,28bc	30,69	31,69	28,44	32,6abc	28,92
Piraclostrobina 0,015 mL/L pré-colheita	30,51	31,35ab	30,19	32,6	29,02	33,1ab	32,36
Piraclostrobina 0,015mL/L [pré + pós-colheita]	30,93	33,76a	31,1	32,35	29,1	34,35a	32,44
Piraclostrobina 0,015 mL/L pós-colheita	29,68	28,86bc	30,44	32,43	28,52	33,43ab	32,11
F _{tratamento}		4,78*				5,03*	
F _{tempo}		12,91**				23,39**	
F _{tratamento X tempo}		2,61**				2,75**	
CV _{tratamento} (%)		6,12				4,27	
CV _{tempo} (%)		6,32				5,70	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

5.2 Análises bioquímicas

A Tabela 11 mostra que o tempo de armazenamento e os tratamentos aplicados interagiram significativamente, alterando os valores da peroxidação de lipídeos nos frutos, tanto para os armazenados sob temperatura ambiente, quanto para os armazenados sob refrigeração. Na primeira avaliação, aos três dias de armazenamento, foram observados menores valores de peroxidação lipídica nos frutos armazenados sob temperatura ambiente e tratados com a maior dose de piraclostrobina ($0,015\text{mL L}^{-1}$) quando comparado aos demais tratamentos. O tratamento em que a piraclostrobina foi aplicado em [pré + pós-colheita] na dose $0,015\text{ml/L}$ apresentou menores valores de peroxidação de lipídeos também aos 14 e 21 dias, sugerindo menor ‘estresse’ no fruto quando comparado ao tratamento controle, embora não se tenha observado aumento significativo na atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) (TABELA 12, FIGURA 19) e catalase (CAT) (TABELA 13, FIGURA 20), o que pode estar relacionado à ação antioxidante não enzimática ou com a ação de outras enzimas antioxidantes não estudadas.

Entretanto aos 14, 21 e 28 dias observou-se maior atividade de peroxidase (POD) para este mesmo tratamento (FIGURA 20), sugerindo um estímulo na atividade desta enzima provocado pela aplicação da piraclostrobina. De acordo com Inzé e Van Montagu (1995), as peroxidases são consideradas as mais importantes na eliminação de H_2O_2 no citosol e nos cloroplastos. Sua atividade é frequentemente aumentada em resposta ao estresse, pois a proteção celular contra as reações oxidativas é uma das principais funções dessa enzima (SIEGEL, 1993). Isto se deve ao fato das peroxidases decomporem o H_2O_2 produzido nas reações catalisadas pela SOD (BOR et al., 2003).

O aumento nos valores de peroxidação de lipídeos no final do armazenamento pode estar relacionado com a senescência dos frutos e a alta porcentagem de infestação de fungos (dados não apresentados); os baixos valores de peroxidação de lipídeos proporcionados pelo tratamento com Imazallil, provavelmente está relacionado com a proteção fúngica promovida por este produto.

Para os frutos armazenados sob refrigeração, os tratamentos testados ou não diferiram do tratamento controle ou provocaram aumento significativo nos valores na peroxidação lipídica, independente da dose e época da aplicação, ao longo de todo o período de armazenagem.

Esse ‘estresse’ observado nesses frutos pode estar relacionado com maior produção de EROs, um sistema de remoção menos eficiente nesse ambiente, ou ainda ao processo de senescência dos frutos.

Purvis e Shewfelt (1993), Wang (1995) e Sala (1998) afirmam que a formação de superóxido ($O_2^{\cdot -}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) nos tecidos expostos a baixas temperaturas podem causar maior peroxidação dos lipídeos da membrana, afetando sua integridade e permeabilidade levando à morte celular. Oncel et al. (2004) confirmam que, em decorrência das menores temperaturas, existe uma maior produção de EROs.

A senescência dos tecidos vegetais é geralmente acompanhada por aumento no conteúdo de malondialdeído, um dos produtos finais da peroxidação de ácidos graxos insaturados em fosfolipídeos, responsável por danos na membrana celular (SHARMA et al., 2012 YE et al., 2000), maior produção de EROs (RIO et al., 1998) e perda gradual da capacidade de remoção pelas enzimas para neutralizar os radicais livres (KANAZAWA et al., 2000).

Sharma et al., (2012) corroboram com essa hipótese ao afirmarem que apesar da presença de um eficiente sistema antioxidante, danos oxidativos ainda ocorrem nas células vegetais, quer devido à produção descontrolada ou pela remoção ineficiente das EROs, podendo causar danos em moléculas como lipídeos, proteínas e DNA. Para os tratamentos estudados, no entanto, não foi observado aumento significativo na atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e POD (Tabela 12, 13 e 14)

Tabela 11. Peroxidação lipídica (TBARS, nmol g⁻¹ de matéria fresca) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e controlada (8 ± 1 °C e 92 ± 2% de UR) por 36 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

Tratamentos	TBARS (nmol g ⁻¹ de matéria fresca)							
	Armazenamento Ambiente					Armazenamento refrigerado		
	3	7	14	21	28	12	24	36
Testemunha	9,55bA	9,28bcA	7,88aA	6,05cB	8,89abA	7,39cdB	7,34cB	9,2cdA
Imazalil 5 mL/L	7,45cB	10,5abA	5,34bC	8,56abB	7,37abB	7,2Cb	7,58bcB	9,94cA
Piraclostrobina 0,010 mL/L pré-colheita	6,48cdC	12,4aA	7,37aAB	7,01bcC	9,04aB	10,01aB	8,05bcC	12,25bA
Piraclostrobina 0,010mL/L [pré + pós-colheita]	11,54aA	9,91bcA	6,23abAB	5,72cC	7,69abB	9,3abB	9,24abB	12,93bA
Piraclostrobina 0,010 mL/L pós-colheita	10,09abA	3,34bcA	6,16abB	5,46cB	9,02aA	7,84bcB	9,06abcB	14,69aA
Piraclostrobina 0,015 mL/L pré-colheita	7,6cB	9,36bcA	7,2abB	9,62aA	8,37abAB	10,05aB	9,3abB	12,03bA
Piraclostrobina 0,015mL/L [pré + pós-colheita]	7,37cA	8,3cA	5,34bB	8,67abA	7,7abA	9,16abA	10,06aA	9,43cdA
Piraclostrobina 0,015 mL/L pós-colheita	5,45dC	8,43cA	7,23aAB	6,64cBC	7,07bABC	7,94bcB	9,95aA	7,7Db
F _{tratamento}			7,69 ^{**}				14,94 ^{**}	
F _{tempo}			58,40 ^{**}				94,50 ^{**}	
F _{tratamento X tempo}			11,10 ^{**}				14,29 ^{**}	
CV _{tratamento} (%)			10,55				10,21	
CV _{tempo} (%)			10,90				8,18	

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, sendo as letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

Tabela 12. Atividade de superóxido dismutase (SOD (U mg⁻¹ de proteína) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e controlada (8 ± 1 °C e 92 ± 2% de UR) por 36 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

Tratamentos	SOD (U mg ⁻¹ de proteína)							
	Armazenamento Ambiente					Armazenamento refrigerado		
	3	7	14	21	28	12	24	36
Testemunha	585,11aAB	708,39aAB	1011,04aA	847,2cdAB	486,03aB	372,97cB	705,12abA	583,17aA
Imazalil 5mL/L	365,9a4B	535,33aAB	853,46aA	753,75dAB	447,71aAB	544,66bcAB	363,4cB	560,84aA
Piraclostrobina 0,010 mL/L pré-colheita	525,89aA	419,04aA	648,12aA	685,68dA	378,75aA	387,04cA	509,97abcA	506,9aA
Piraclostrobina 0,010mL/L [pré + pós-colheita]	490,79aBC	406,46aC	878,22aAB	1284,06cA	377,05aC	463,51cA	398,54cA	502,85aA
Piraclostrobina 0,010 mL/L pós-colheita	415,97aC	584,02aBC	1027,58aAB	1294,17cA	358,87aA	480,22cA	465,6bcA	452,09aA
Piraclostrobina 0,015 mL/L pré-colheita	613,71aBC	376,41aC	1049,07aB	1975,55bA	377,01aC	737,79abA	294,76cC	517,22aB
Piraclostrobina 0,015mL/L [pré + pós-colheita]	436,86aC	819,61aABC	922,55aAB	1193,77cdA	569,05aBC	852,77aA	484,18abcB	668,05aAB
Piraclostrobina 0,015 mL/L pós-colheita	340,32aC	399,91aBC	822,69aB	3944,08aA	515,94aBC	396,15cB	715,61aA	541,45aAB
F _{tratamento}			17,30 ^{**}				4,97 [*]	
F _{tempo}			115,71 ^{**}				1,71 ^{ns}	
F _{tratamento X tempo}			17,89 ^{**}				6,98 ^{**}	
CV _{tratamento} (%)			28,76				21,04	
CV _{tempo} (%)			30,64				21,37	

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade, sendo as letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

Tabela 13. Atividade da catalase ($\mu\text{Kat } \mu\text{g}^{-1}$ de proteína) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente ($21,3\text{-}28,9^\circ\text{C}$ e UR 62,4%) por 28 dias e controlada ($8 \pm 1^\circ\text{C}$ e $92 \pm 2\%$ de UR) por 36 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

Tratamentos	CAT ($\mu\text{Kat } \mu\text{g}^{-1}$ de proteína)							
	Armazenamento Ambiente					Armazenamento refrigerado		
	3	7	14	21	28	12	24	36
Testemunha	5,23deB	3,53aB	3,03aB	1,3bB	18,62aA	9,82Aa	6,45abA	5,87aA
Imazalil 5 mL/L	3,54eA	6,7aA	3,49aA	4,31bA	6,8abA	1,96bcA	7,74aA	4,44aA
Piraclostrobina 0,010 mL/L pré-colheita	15,97cA	1,44aB	4,97aB	4,65bB	3,75abB	0,97cB	2,56abA	1,66AB
Piraclostrobina 0,010mL/L [pré + pós-colheita]	11,98cdB	3,88aC	3,8aC	24,32aA	3,54abC	2,02bcA	2,04bA	6,28Aa
Piraclostrobina 0,010 mL/L pós-colheita	23,9bA	2,94aB	2,76aB	3,11bB	3,1abB	6,97abB	7,02abAB	2,5aA
Piraclostrobina 0,015 mL/L pré-colheita	32,77aA	2,57aB	4,53aB	2,28bB	1,4cB	4,42abcA	8,02aA	1,78B
Piraclostrobina 0,015mL/L [pré + pós-colheita]	5,01eA	2,2aA	1,5aA	4,41bA	2,69abA	6,33abcA	7,73aA	6,45aA
Piraclostrobina 0,015 mL/L pós-colheita	8,71deA	8,07aA	1,73aB	7,6bAB	9,21bA	2,83bcA	4,59abA	2,13aA
$F_{\text{tratamento}}$			11,82**				4,82**	
F_{tempo}			52,00**				4,86 ^{ns}	
$F_{\text{tratamento X tempo}}$			18,22**				2,85**	
$CV_{\text{tratamento}} (\%)$			39,32				47,69	
$CV_{\text{tempo}} (\%)$			47,63				48,82	

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade, sendo as letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

Tabela 14. Atividade da peroxidase (POD, μmol de purpurogalina $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente ($21,3\text{-}28,9^\circ\text{C}$ e UR 62,4%) por 28 dias e controlada ($8 \pm 1^\circ\text{C}$ e $92 \pm 2\%$ de UR) por 36 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

Tratamentos	POD (μmol de purpurogalina $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína)							
	Armazenamento Ambiente					Armazenamento refrigerado		
	3	7	14	21	28	12	24	36
Testemunha	21,24abB	28,9abAB	18,47eB	21,84bcB	37,65bcA	8,31bA	8,77abA	11,1bA
Imazalil 5 mL/L	21,62abB	13,07cB	47,18abA	19,83bcB	15,98Eb	29,66aA	6,28bC	17,05abB
Piraclostrobina 0,010 mL/L pré-colheita	28,19aB	17,64bcB	22,62deA	40,46aA	25,98cdB	8,4bA	8,63abA	13,29bA
Piraclostrobina 0,010mL/L [pré + pós-colheita]	17,77abC	23,24abcC	41,89abcAB	29,17abBC	44,64Ba	11,03abB	15,27aB	21,89 aA
Piraclostrobina 0,010 mL/L pós-colheita	23,53abA	9,5cB	34,47bcdA	32,14abA	23,24Ea	17,96bA	6,53bB	15,51abA
Piraclostrobina 0,015 mL/L pré-colheita	27,54aA	32,59aA	25,73deA	32,68abA	26,18cdA	7,02bB	8,32abB	15,45abA
Piraclostrobina 0,015mL/L [pré + pós-colheita]	13,96abC	13,74cC	53,07aB	40,99aB	67,12aA	10,67abA	12,48abA	15,53abA
Piraclostrobina 0,015 mL/L pós-colheita	11,36bB	9,21cB	32,81cdA	14,32cB	37,95bcA	9,25bB	15,45aAB	17,3abA
$F_{\text{tratamento}}$			10,55**				4,83**	
F_{tempo}			44,10**				17,76**	
$F_{\text{tratamento X tempo}}$			11,243**				8,173**	
$CV_{\text{tratamento}} (\%)$			26,17				35,93	
$CV_{\text{tempo}} (\%)$			23,68				29,49	

Médias seguidas pela mesma não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade, sendo as letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha.** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

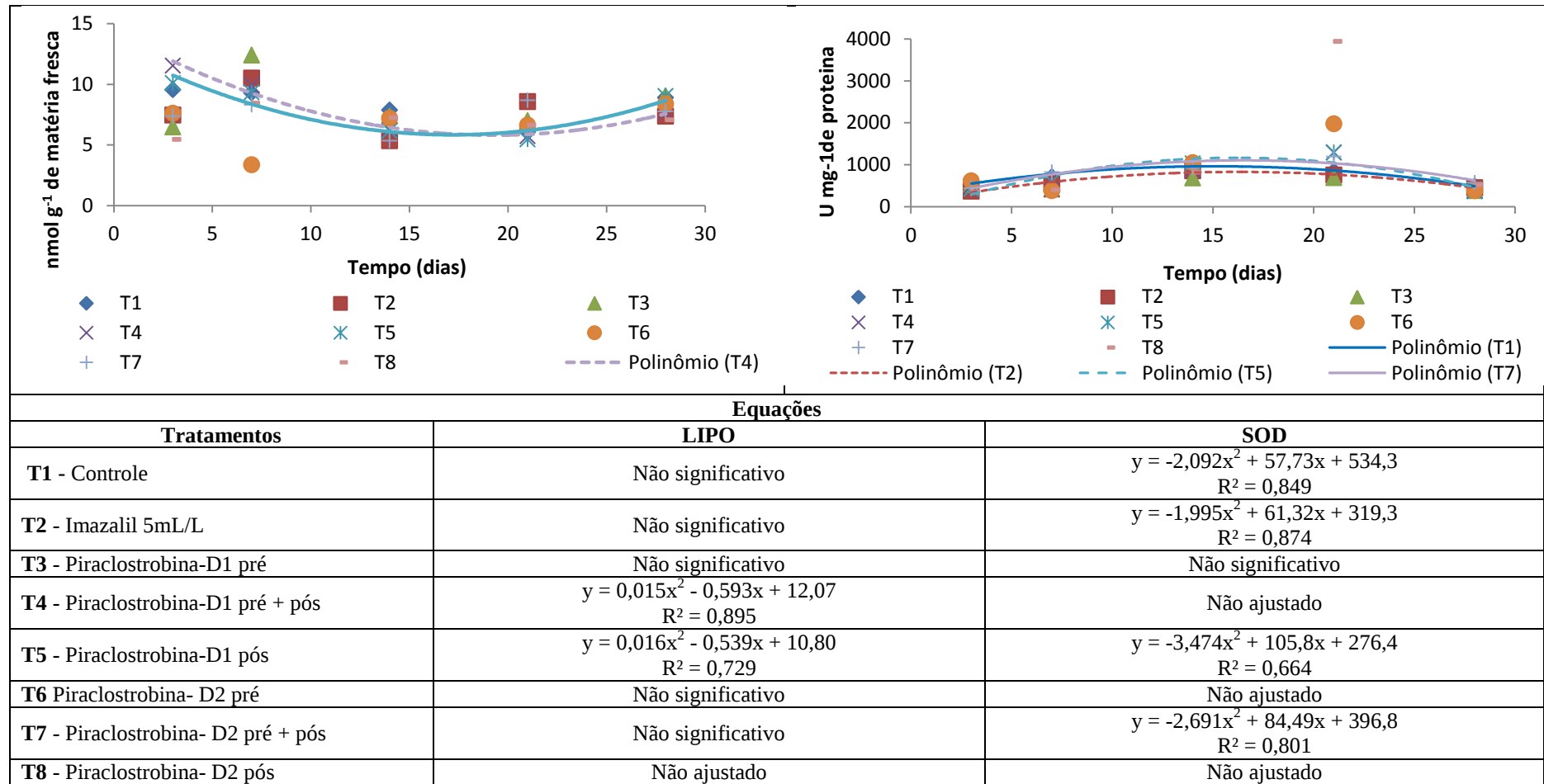


Figura 19. Peroxidação lipídica (TBARS, nmol g^{-1} de matéria fresca) e atividade da superóxido dismutase (SOD, U mg^{-1} de proteína) em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente ($21,3\text{--}28,9\text{ }^{\circ}\text{C}$ e UR 62,4%) por 28 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016. D1= $0,010\text{ mL.L}^{-1}$ e D2= $0,015\text{ mL.L}^{-1}$. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

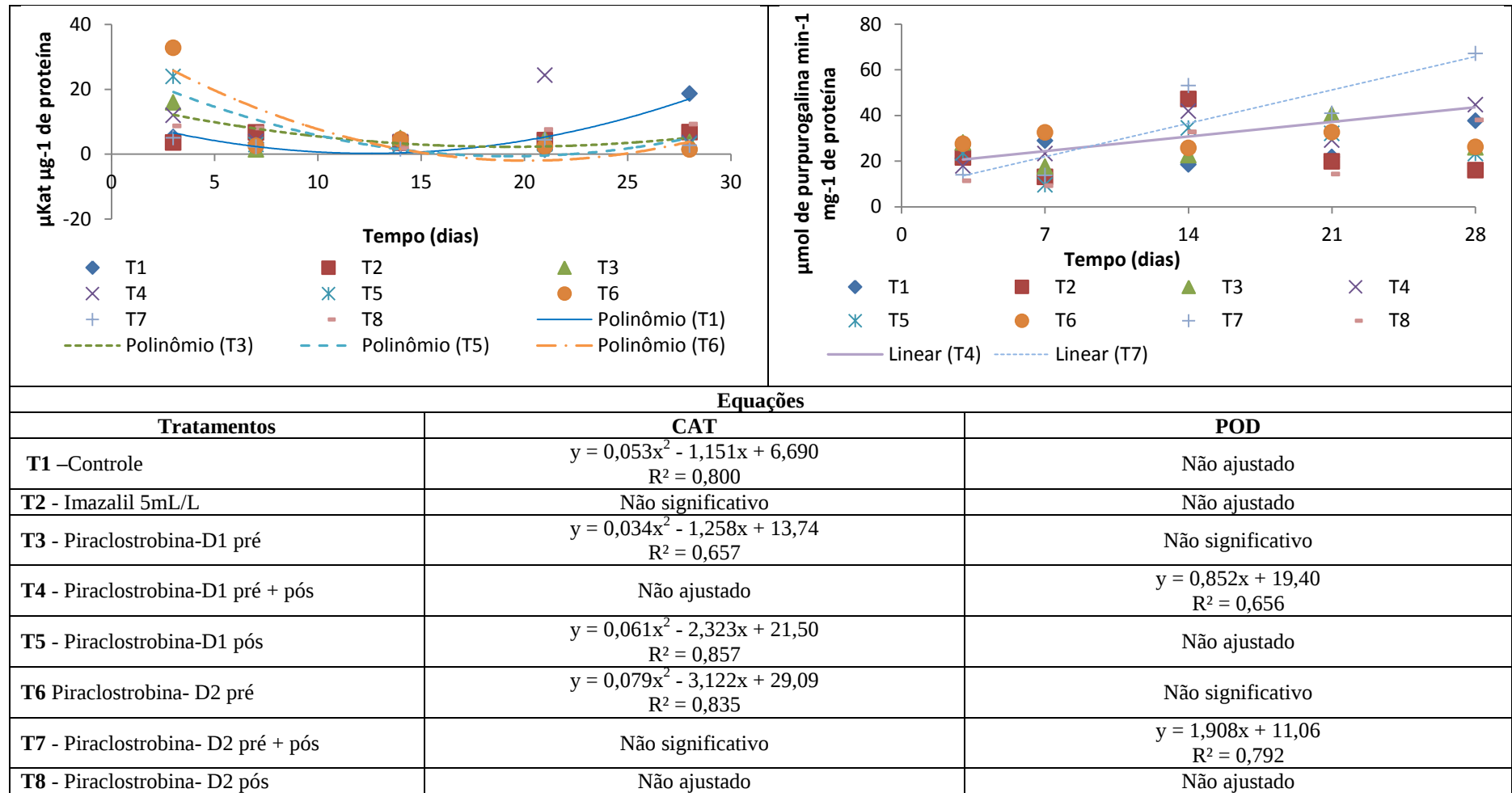


Figura 20. Atividade da catalase ($\mu\text{Kat } \mu\text{g}^{-1}$ de proteína) e peroxidase (POD, $\mu\text{mol de purpurogalina min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente ($21,3\text{--}28,9^\circ\text{C}$ e UR 62,4%) por 28 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016. D1= $0,010 \text{ mL.L}^{-1}$ e D2= $0,015 \text{ mL.L}^{-1}$. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

5.3 Análise de resíduo

Tomando a exigência legal para a comercialização e desenvolvimento de novos métodos de utilização de agroquímicos, é imprescindível um relatório técnico que expresse a existência (ou não) de resíduos desses nos produtos agrícolas. Os dados sobre o residual de piraclostrobina nos frutos de laranja natal armazenados sob diferentes condições estão relacionados na Tabela 24 e no ANEXO 1. Todos os valores apresentados estão abaixo do LMR (limite máximo de resíduo), estabelecido pela ANVISA, descritos na monografia de piraclostrobina, sendo esse valor equivalente a $0,5\text{mg.kg}^{-1}$. O LMR é a quantidade máxima de resíduo de um pesticida que pode estar legalmente presente nos alimentos ou rações animais, sem causar danos à saúde do consumidor e é expressa em mg Kg^{-1} . Atualmente os índices de LMR são estabelecidos com base em estudos de campo conduzidos no país e supervisionados segundo boas práticas agrícolas, que atendem o previsto na Lei Federal de Agrotóxicos.

Os dados obtidos nesse estudo, devem ser evidenciados, pois comprovam a segurança do uso da piraclostrobina, mesmo quando aplicada ao final do ciclo de produção do fruto (vinte dias antes da colheita) e pós-colheita. Atualmente, sabe-se que para exercer um grande impacto na cadeia produtiva de alimentos, a qualidade e segurança alimentar são questões cruciais e que, atender as exigências impostas pelos órgãos de fiscalização é uma questão decisiva para a comercialização desses produtos.

Deve-se lembrar que, desde os anos 70, há um programa de ação do governo coordenado pelo Ministério da Agricultura, o chamado: Produção Integrada de Frutas (PIF), que consiste no uso de técnicas voltadas à produção de alimentos de melhor qualidade, garantindo a utilização mínima de produtos agrotóxicos, diminuindo, assim, os efeitos prejudiciais ao meio ambiente e à saúde humana (RODRIGUES, 2006).

Tabela 15. Quantidade total de resíduos de piraclostrobina em frutos de laranja ‘Natal’ tratados com piraclostrobina, armazenados em temperatura ambiente (21,3-28,9 °C e UR 62,4%) por 28 dias e sob refrigeração (8 ± 1 °C e 92 ± 2% de UR) por 36 dias. FCA/UNESP, Botucatu-SP, 2016.

Tratamentos	Piraclostrobina Total (mg kg ⁻¹)							
	Armazenamento Ambiente				Armazenamento Refrigerado			
	0	7	14	21	0	12	24	36
Testemunha	< 0,01				< 0,01			
Imazalil 5 mL/L	-	<0,012	<0,023	<0,014	-	<0,012	<0,012	<0,012
Piraclostrobina 0,010 mL/L pré-colheita	<0,031	<0,026	<0,012	<0,037	<0,031	<0,034	<0,029	<0,030
Piraclostrobina 0,010mL/L [pré + pós-colheita]	<0,039	<0,033	<0,032	<0,041	<0,039	<0,033	<0,042	<0,033
Piraclostrobina 0,010 mL/L pós-colheita	-	<0,012	<0,061	<0,012	-	<0,012	<0,012	<0,012
Piraclostrobina 0,015 mL/L pré-colheita	<0,038	<0,041	<0,012	<0,043	<0,038	<0,040	<0,038	<0,034
Piraclostrobina 0,015mL/L [pré + pós-colheita]	<0,046	<0,043	<0,012	<0,053	<0,046	<0,051	<0,053	<0,051
Piraclostrobina 0,015 mL/L pós-colheita	-	<0,019	<0,028	<0,023	-	<0,012	<0,014	<0,013

Nota: 1) O valor encontrado de resíduo para Piraclostrobina Total é equivalente a soma de Piraclostrobina e seu metabólito 500M07 convertido. Dessa forma tem-se que: Resíduos de Piraclostrobina Total = Σ [Resíduos Piraclostrobina + (resíduos 500M07*1,08)]. 2) A transição de massa utilizada para quantificação de Piraclostrobina foi a 388/194 e para 500M07 foi utilizada a 358/164.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados obtidos no presente estudo demonstram de forma bastante representativa os benefícios provocados pela aplicação da piraclostrobina no aumento da qualidade pós-colheita dos frutos de laranja ‘Natal’, sobretudo quando aplicada pré-colheita, ou seja, quando os frutos ainda estão ligados à planta. As doses estudadas, de maneira geral, não tiveram grandes diferenças significativas, sugerindo dessa maneira que a menor dose recomendada já é capaz de promover o referido aumento.

O fato comprovado de que a piraclostrobina é capaz de alterar o ponto de compensação de carbono, aumentando sua assimilação e, consequentemente, a translocação de fotoassimilados para os frutos pôde ser constatada de maneira evidente, pois o aumento nos teores de sólidos solúveis em 2°Brix nos frutos tratados tem expressivo valor para toda a cadeia citrícola. Tal afirmação é importante, uma vez que, veiculados à indústria processadora de frutos, esse aumento representa economia de 67 caixas (40,8 kg) de laranja a cada tonelada de suco FCOJ produzido e que, com as dificuldades climáticas e fitossanitárias do setor afetando diretamente a qualidade dos frutos produzidos, essa mesma indústria prevê o pagamento para os produtores baseados no índice tecnológico (teor de sólidos solúveis, rendimento industrial e rendimento de suco) da matéria prima entregue.

Os resultados obtidos nesse estudo mostram o potencial da piraclostrobina como promotor de qualidade nos frutos, pois é capaz de, não só aumentar os valores de sólidos solúveis, como também o rendimento de suco e ainda, manter, através da diminuição da respiração dos frutos durante todo o período de armazenamentos, os benefícios promovidos pelos tratamentos. Adicionalmente, o presente estudo comprova, através dos resultados obtidos na análise de resíduos, a segurança alimentar dos frutos tratados, pois, mesmo com a utilização tardia da piraclostrobina nos frutos, os níveis residuais da molécula e seus metabólitos ficaram abaixo do estabelecido pela ANVISA.

Outro ponto a ser ressaltado nesse estudo refere-se ao tipo de armazenamento utilizado que, embora não tenha sido o principal objeto de estudo, resultou em observações interessantes, pois o comportamento dos frutos tratados, para as características estudadas, foi semelhante nos dois tipos de armazenamento (ambiente e refrigerado). Fato notório, tendo em vista que, no Brasil, o custo diário de armazenamento refrigerado por tonelada de laranjas gira em torno de R\$ 51,52 e que, neste estudo, os dados obtidos robustecem a utilização do armazenamento ambiente para os frutos tratados com piraclostrobina. Isto se deve ao fato desses frutos apresentarem menor perda de massa e maior atividade da enzima antioxidante peroxidase (POD), diminuindo o ‘estresse’ e resultando em aumento considerável no tempo de comercialização.

7. CONCLUSÕES

7.1 Análise de resíduos

Todos os tratamentos testados neste trabalho apresentaram valores residuais de piraclostrobina inferiores ao limite máximo de resíduo (LMR) estabelecido pela ANVISA.

7.2 Análise de enzimas antioxidantes

A aplicação de piraclostrobina interferiu de forma benéfica na peroxidação de lipídeos e na atividade da enzima antioxidante peroxidase nos frutos armazenados em temperatura ambiente, sem, no entanto, alterar as atividades de superóxido dismutase e catalase.

Nos frutos armazenados sob refrigeração a utilização de piraclostrobina não interferiu na atividade das enzimas antioxidantes estudadas e aumentou a peroxidação de lipídeos.

7.3 Qualidade dos frutos

Para as duas condições de temperatura estudadas (ambiente e refrigerada) a aplicação do fungicida piraclostrobina em pré-colheita, independente da dose

utilizada, alterou positivamente a qualidade pós-colheita dos frutos cítricos armazenados. A aplicação pré-colheita de piraclostrobina também diminuiu a perda de massa nos frutos armazenados sob temperatura ambiente, mantendo a qualidade desses durante todo o período.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUSTÍ, M.; ALMELA, V. **Aplicación de fitorreguladores en citricultura**. Barcelona: Aedos Editorial, 1991. 169 p.

ALSCHER, R.G.; ERTURK, N; HEALTH, L.S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of experimental Botany**, Oxford, v. 53, n. 372, p. 1331-1341, 2002.

AMARO, A. C. E. **Efeitos fisiológicos de fungicidas no desenvolvimento de plantas de pepino japonês enxertadas e não enxertadas, cultivadas em ambiente protegido**. 2011. 86 f. Dissertação (Mestrado em Horticultura)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, Gray, v. 55, n. 123, p. 373-399, 2004.

ARAUJO, J.M.M de. **Eficiência do hidroresfriamento na qualidade pós-colheita do melão cantaloupe**. 2005. 58f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Semi - Árido, Mossoró, 2005.

ASSIS, J. S. de; Fisiologia pós-colheita de hortaliças. CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 38., 1998, Petrolina, PE. Anais... Petrolina:Embrapa Semi-Árido/SOB, 1999. CD-ROM 19.

BARLETT, D. W. et al. Understanding the strobilurin fungicides. **Pesticide Outlook**, Cambridge, v. 12, n. 4, p. 143-146, 2001.

BARLETT, D. W. et al. The strobilurin fungicides. **Pest Management Science**. v. 58, n. 7, p. 649-662, 2002.

BASF. F500: O fungicida premium, São Bernardo do Campo 2005. 35 p. (Boletim Técnico)

BELOW, F. E. et al. Occurrence and proposed cause of hollow husk in maize. **Agronomy Journal**. Madison, v. 110, n. 1, p. 237-242, 2009.

BENDER, R. J. Colheita, beneficiamento, embalagem, conservação e comercialização. In: CITRICULTURA: laranja: tecnologia de produção, pós-colheita, industrialização e comercialização. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2006. 396 p.

BEZERRA, E. A.; GONÇALVES, I. L. Avaliação do pH das variedades de laranja na cidade de Caxias – MA a partir das massas de ácido ascórbico e ácido cítrico anidro na amostra de suco natural. In: Simpósio brasileiro de educação química. Fortaleza, 2008.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K. V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, London, v. 91, n. 2, p. 179-194, 2003.

BOR, M.; ÖZDEMİR, F.; TÜRKAN, I. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. *Plant Science*, Limerick, v.164, p.77-84, 2003.

BRACKMANN, A.; LUNARDI, R.; DONAZZOLO, J. Frigoconservação e Controle de Podridões em Laranja “Valência”. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 2, p. 247-251, 1999.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos físico-químico para análise de alimentos**. 4. ed. Brasília, DF, 2005. 1018 p.

BRYSON, R.J.; Leandro, L.; Jones, D.R. The physiological effects of kresoxim-methyl on wheat leaf greenness and the implication for crop yield. In: Proceedings of the righton Crop Protection Conference - Pests and Diseases, 2000, Farnham. **Proceedings...** Farnham: British Crop Protection Council, 2000. p.739-747.

CAMPA, A. Biological roles of plant peroxidases: known and potential function. In: EVERSE, J., EVERSE, K. E., GRISHAM, M. B. (Ed.). **Peroxidases in chemistry and biology**. Boca Raton: CRC Press, 1991. p. 25-50.

CANTILLANO, R. F. F.; CASTAÑEDA, L. M. F.; CASTRO, L. A. S.; TREPTOW, R. O. **Qualidade Pós-Colheita de Laranjas cv. Salustiana Sob Atmosfera Modificada Durante o Armazenamento Refrigerado**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009. 31 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 90).

CARVALHO, C. R. L. et al. **Análises químicas de alimentos**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1990, 121 p. (Manual Técnico).

CARVALHO, A.V.; RIOS, A. de. O.; BOAS, E.V.de.B.V.; LIMA, L.C.O. Influência da atmosfera modificada e do CaCl₂ sobre a qualidade pós-colheita de tangor Murcote". **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.25, n.4, p. 909-916, 2001.

CEAGESP - Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo. **Normas de Classificação de Citros de Mesa** - CEAGESP - São Paulo: CEAGESP, 2012. Disponível em <http://www.ceasacampinas.com.br/novo/Serv_padro_Laranja.asp> acesso em 09 de jun de 2015.

CEPEA. Alertas de mercado: com clima ameno, demanda segue baixa, mas preço se sustenta. Piracicaba, 2011. Disponível em: <<http://cepea.esalq.usp.br/imprensa/?page=340&id=6161>>. Acesso em: 26 ago. 2015.

CERETTA, M.; GONÇALVES, E. D.; DUTRA, L. F.; RINALDI, M. M.; ROMBALDI, C. V. Filme de Polietileno e Cera na Qualidade da Laranja “Valência” Frigoarmazenada. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 5, n. 1, p. 35-37, 1999.

CHANCE, S.; SIES, H.; BOVERIS, A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. **Physiological Reviews**, Washington, v. 59, p. 527-605, 1979.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: Fisiologia e manuseio**. 2.ed, Lavras: UFLA, 2005. 785p.

CITROS. **Agrianual 2014**: Anuário Estatístico da Agricultura Brasileira, São Paulo, p. 237-269, 2014

CITRUS BR. **Análise da estimativa de safra 2015/2016**. Disponível em: <http://www.CITRUSBR.com/noticias/?id=311907>. Acesso em: 13 jan. 2016.

CITRUS BR. **USDA divulga estimativa de safra 2014/15 na Flórida**. São Paulo, 2016. Disponível em: <http://www.CITRUSBR.com/noticias/?id=311636>. Acesso em; 13 jan. 2016.

CITRUS BR. **Estimativa total da safra 2014/2015 e projeção de estoque**. São Paulo, 2014. Disponível em: <http://www.CITRUSBR.com/exportadores-citricos/imprensa/estimativa-de-safra-311250-1.asp>. Acesso em: 07. ago. 2015.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira: Laranja Safra 2013/2014: Primeira Estimativa: São Paulo e Triângulo Mineiro. Brasília, DF, 2013. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_05_14_09_38_01_boletim_laranja__1_2013.pdf>. Acesso em: 06 ago. 2015.

COORDENADORIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO ESTADO DE SÃO PAULO. Dados da citricultura do estado de São Paulo por variedade: total por escritório de defesa agropecuária e município: Base 1º semestre 2012. São Paulo, 2012. Disponível em: <<http://www.defesaagropecuaria.sp.gov.br/www/gdsv/dadosCitriculturaPaulistaArquivos/PorVariedade-TotalMunicipio.pdf>>. Acesso em: 02 jul. 2014.

CRAWFORD, N. M. Mechanisms for nitric oxide syntasis in plants. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster v. 57, p.471-470, 2006

DEL MAESTRO, R. F. An approach and to free radicals in medicine and biology. **ActaPhysiologica Scandinavica Supplementum**, Stockholm, v. 492, p. 153-167, 1980.

FUNDECITRUS. **Produção de laranjas de São Paulo é reestimada em 286,14 milhões de caixas**. Disponível em: <http://www.fundecitrus.com.br/comunicacao/noticias/integra/producao-de-laranjas-de-sao-paulo-e-reestimada-em-28614-milhoes-de-caixas/345>. Acesso em: 13 jan. 2016.

DI GIORGI, F. et al. Contribuição ao estudo do comportamento de algumas variedades de citros e suas implicações agroindustriais. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 11, n. 2, p. 567-612, 1990.

DONADIO, L. C.; STUCHI, E. S.; POZZAN, M.; SEMPIONATO, O. R. Novas variedades e clones de laranja para a indústria. **Boletim citrícola**, Jaboticabal : Funep, n 8., p. 42, mar 1999.

DUARTE, T. F.; BRON, I. V.; RIBEIRO, R. V.; MACHADO, E. C.; MAZZAFERA, P.; SHIMIZU, M.M.; **Efeito da carga pendente na qualidade e frutos de laranjeira ‘valência’** *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal - SP, v. 33, n. 3, p. 823-829, 2011.

DUENHAS, L. H. et al. Fertirrigação com diferentes doses de NPK e seus efeitos sobre a produção e qualidade de frutos de laranja (*Citrus sinensis* O.) ‘Valência’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 214-218, abr. 2002.

DURING, H.; ALLEWELDT, G. Der Jahresgang der Abscinsure in vegetativen Organen Von Reben Vitis, v.12, p. 26-32, 1973.

EMBRAPA. Sistema de produção de citros para o nordeste. Cruz das Almas, 2003. (Sistema de Produção, 16). Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Citros/CitrosNordeste/importancia.htm>>. Acesso em: 06. ago. 2014.

ERKAN, M.; PEKMEZCI, M.; WANG, C. Y. Hot Water and Curing Treatments Reduce Chilling Injury and Maintain Post-Harvest Quality of “Valencia” Oranges. **International Journal of Food Science and Technology**, Malden, v. 40, n. 1, p. 91-96, 2005.

FOYER, C. H.; GALTIER, N. Source-sink interaction and communication in leaves. In: ZAMSKI, E.; SCHAFFER, A. A. (Ed.). **Photoassimilate distribution in plants and crops:Source-sink relationships**. New York: Marcel Dekker INC, 1996. cap. 13, p.331-340.

GARDNER, P. T.; WHITE, T. A. C.; MCPHAIL, D. B.; DUTHIE, G. G. The Relative Contributions Of Vitamin C, Carotenoids and Phenolic to the Antioxidants Potential of Fruits Juices. *Food Chemistry*, Barking, v. 68, n. 4, p. 471-474, 2000.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. 2.ed. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 78 p, 2002.

GIOVANNONI, J. Molecular biology os fruit maturation and ripening. **Annual review os Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 52, p. 725-749, June 2001.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GOMES, M. M. A.; MEDINA, C. L.; MACHADO, E.C.; LAGÔA, A. M.M. A. & MACHADO, M. A. Quantificação do ácido abscísico em laranjas ‘Pera’ infectadas pela *Xylella fastidiosa* e submetidas a deficiência hídrica. **Summa Fitopatológica**, 25 (1). 1999.

GROSSMANN, K.; RETZLAFF, G. Bioregulatory effects of fungicidal strobilurin kresoxim-methyl in wheat (*Triticum aestivum*). **Pesticide Science**, Oxford, v. 50, n. 1, p. 11-20. 1997.

GROSSMANN, K.; KWIATKOWSKI, J.; CARPAR, G. Regulation of phytohormone levels, leaf senescence and transpiration by the strobilurin kresoxim-methyl in wheat (*Triticum aestivum*). **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 154, p. 805-808, 1999.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.C. Role of free radicals and catalytic metal íon in human disease: an overview. **Methods in Enzymology**, Pasadena, v.186, p.1-63, 1990.

HARVEY, I. C. Epidemiology and control os leaf and awn spot of barley caused by *Ramularia collo-cygni*. **New Zealand Plant Protection**, Auckland, v. 55, p. 331-335, 2002.

HASSE, G. A. **Laranja no Brasil**. São Paulo: Duprat & IOBE Propaganda, 1987. 296 p.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P. Uso de Ethephon e Fécula de Mandioca na Conservação Pós-Colheita de Limão Siciliano. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v. 7, n. 1, p. 99-106, 2007

HERNANDEZ, J. A. et al. Antioxidant systems and O₂ / H₂O₂ production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 127, p. 827-831, 2001.

HERTWIG, B.; STREB, P.; FEIRABEND, J. Light dependence of catalase synthesis and degradation in leaves and the influence stress conditions. **Plant Physiology**, Rockville, v. 100, p. 1547-1553, 1992.

HULME, A. C. (Ed.). **The biochemistry of fruits and their products**. London: Academic Press, 1971.

IBGE. Indicadores IBGE: estatística da produção agrícola. Rio de Janeiro, 2013.

JADOSKI, Cleber Junior. **Efeitos fisiológicos da piraclostrobina em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) condicionado sob diferentes tensões de água no solo**. 2012. x, 80 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu, 2012.

KANAZAWA, S et al. Changes in antioxidative enzymes in cucumber cotyledons during natural senescence: comparison with those during dark induced senescence. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 109, n. 2, p. 211-216, June 2000.

KANEKO, I.; ISHII, H. Effect of azoxystrobin on activities of antioxidant enzymes and alternative oxidase in wheat head blight pathogens *Fusarium graminearum* and *Microdochium nivale*. **Journal of General Plant Pathology**, Tokyo, v. 75, n. 5, p. 388-398, 2009.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase Activities during Rice Leaf Senescence. **Plant Physiology**, v. 57, n. 2, p. 315-319, 1976.

KAYS, S.J.; PAULL, R.E. **Postharvest biology**. Athens: EP press, 2004. 568p.
KLUGE, R. A.; JOMORI, M. L. L.; EDAGI, F. K.; JACOMINO, A. P.; AGUILA, J. S. Danos de Frio e Qualidade de Frutas Cítricas Tratadas Termicamente e Armazenadas sob Refrigeração. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 2, p. 233-238, 2007.

KLUGE, R. A.; NACHTIGAL, J. C.; FACHINELLO, J. C.; BILHALVA, A. B. **Fisiologia e Manejo Pós-Colheita de Frutas de Clima Temperado**. 2. ed. Campinas: Livraria e Editora Rural, 2002. 214 p.

KÖEHLE, H. et al. Physiological effects of strobilurin fungicide F 500 on plants. **Biochemical Society Transactions**, London, v. 22, n. 65, 1994.

LARANJA: **Anuario brasileiro da fruticultura**, Santa Cruz do Sul: ed. Gazeta Santa Cruz, p. 136, 2013.

KOHATSU, D.S. **Efeitos de reguladores vegetais na qualidade de frutos de melão rendilhado**. 2007. 96p. Dissertação (Mestrado em Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

KOLLER, O.C. Citricultura: limão e tangerina. Porto Alegre, 1994.

LADANIYA, M. S. **Citrus fruit: biology, technology and evaluation**. Goa, India: Academic Press, 2008. p.333.

LATADO, R. R.; TOGNATO, P. C.; SILVA-STENICO, M. E.; NASCIMENTO, L. M.; SANTOS, P. C. Acúmulo de Antocianinas e Características Físicas e Químicas de Frutos de Laranjas Sanguíneas Durante o Armazenamento a Frio. **Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal**, v. 30, n. 3, p. 604-610, 2008.

LELIÈVRE, J.M.; LATCHÉ, A.; JONES, B.; BOUZAYEN, M.; PECH, J.C. Ethylene and fruit ripenin. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, v. 101, p. 727-739, July 1997.

LIMA, L. C.; VILAS BOAS, E. V. de; REIS, J. M. R.; CHITARRA, A. B.; Qualidade dos frutos de tangerineiras ‘ponkan’ (*Citrus reticulata blanco*), armazenados sob temperatura ambiente. **Revista Universidade Alfenas**, Alfenas, v. 5, p. 27-31, 1999.

LURIE, S.; KLEIN, J.D. Cyanide metabolism in relation to ethylene prodution and cyanide intensive respiration em climatic and non-climatic fruits. **Journal of Plant Physiology**, Leipzig, v. 135, n. 5, p. 518-521, Apr., 1990.

MACEDO, A. C. **Efeitos fisiológicos de fungicidas no desenvolvimento de plantas de melão rendilhado, cultivadas em ambiente protegido**. 2012. 65f. Dissertação (Mestrado em Horticultura)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.

MALGARIM, M. B.; CANTILLANO, R. F. F.; TREPTOW, R. O. Conservação de Tangerina cv. Clemenules Utilizado Diferentes Recobrimentos. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 29, n. 1, p. 75-82, 2007.

MANJUNATHA, G et al. Nitric oxide counters ethylene effects on ripening fruits. **Plant Signaling & Behavior**, v.7, n. 4, p. 476-483, 2012.

MIZUTANI, A. et al. A possible mechanism of control of Rice blast disease by a novel alkoxyiminoacetamide fungicide, SSF126. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 86, n. 3, p. 295-300, 1996.

MONTENEGRO, H.W.S. Curso avançado de citricultura. Piracicaba: ESALQ/USP, 1958.

NARITA, I. Y. **Análise de óxido nítrico produzido durante a indução da organogênese adventícia em bases foliares de abacaxizeiro**. 2010. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciências, na área de Botânica). Universidade de São Paulo. São Paulo, 2010.

NASCIMENTO, L. M.; CUZIN, J.; MARTINS, A. B. G. Efeito do Etileno na Qualidade de Frutos da Laranjeira Pera Armazenados sob Diferentes Temperaturas. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, Sonora, v. 8, n. 1, p. 7-16, 2006.

NEILL, S. J. et al. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signaling molecules in plants. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 53, p. 1237-1247, 2002.

NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G. An Overview of Brazilian Citriculture. In: INTERNATIONAL AGRIBUSINESS PAA-PENSA CONFERENCE, 8., 2011, Buenos Aires. Anais... Buenos Aires: [s.n.], 2011.

NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G.; MILAN, P.; LOPES, F. F.; CRESSONI, F.; KALAKI, R. **O retrato da citricultura brasileira**, São Paulo: CITRUSBR, 2011. 138p

NONINO, E. Variedades de laranjas para fabricação de sucos. Laranja, Cordeirópolis, v.16, n.1, p.119-132, 1995.

OERKE, E. C.; BECK, C.; DEHNE, H. W. Physiologic effects of strigolactone on wheat yield. **Phytopathology**, St. Paul, v. 91, suppl. 6, p. 67, 2001.

ÖNCEL, I. et al. Role of antioxidant defense system and biochemical adaptation on stress tolerance of high mountain and steppe plants. **Acta Oecologia**, Paris, v. 26, n. 3, p. 211-218, Dec.2004.

P`ERIN, C et al. Molecular and genetic characterization of a non-climatic phenotype in melon reveals two loci conferring altered ethylene response in fruit. **Plant Physiology**, Rockville, v. 129, p. 300-309, Apr. 2002.

PARREIRA, D. F.; NEVES, W. S.; ZAMBOLIM, L. Resistência de fungos a fungicidas inibidores de quinona. **Revista Trópica: ciências agrárias e biológicas**, Chapadinha, v. 3, n. 2, p. 24-34, 2009.

PANTASTICO, E. R. B. **Postharvest physiology handling and utilization of tropical and subtropical fruits and vegetables**. West Port: Avi, 1975. 560 p.

PEIXOTO, P. H. P. et al. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, n. 3, p. 137-143, 1999.

PEREIRA, M. E. C. et al. **Procedimentos pós-colheita na produção integrada de citros**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. (Documentos, 156). Disponível em: <http://hortibrasil.org.br/jnw/images/stories/biblioteca/pif/documento_156.pdf> Acesso em: 06 ago. 2014.

PLANCHET, E.; KAISER, W. M. Nitric oxide production in plants: facts and fictions. Landes Bioscience, 2006.

PURVIS, A.C. The role of adaptive enzymes in carbohydrate oxidation by stressed and senescing plant tissue. **Hortscience**, Alexandria, v. 32, n. 7, p. 195-168, Dec. 1997.

PURVIS, A. C.; SHEWFELT, R. L. Does the alternative pathway ameliorate chilling injury in sensitive plant tissues? **Physiology Plantarum**, v. 88, p. 712-718, 1993.

RAMA DEVI, S.; PRASAD, M. N. V. Copper toxicity in *Ceratophyllum demersum* L. (Coontail), a free floating macrophyte: response of antioxidant enzymes and antioxidants. **Plant Science**, Limerick, v. 138, n. 2, p. 157-65, 1998.

RAMOS A.R.P; MACEDO A.C; AMARO A.C.E, GOTO, R; RODRIGUES J.D.; ONO E.O. Produtos de efeitos fisiológicos no desenvolvimento de plantas de tomate cv.

Giuliana. 51 Congresso Brasileiro de Olericultura, 2011, Viçosa. **Horticultura Brasileira** 29: S1224-S1232. Vitória da Conquista: Associação Brasileira de Horticultura, 2011. Suplemento - CD ROM.

RAPISARDA, P.; BELLOMO, S. E.; INTELISANO, S. Storage Temperature Effects on Blood Orange Fruit Quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Davis, n. 49, p. 3230-3235, 2001.

RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas à patógenos. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília DF, v. 28, n. 2, p. 123-130, 2003.

RODRIGUES, M. A. T. **Avaliação do efeito fisiológico de fungicidas na cultura da soja**. 2009. 193f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura, ESALQ, Piracicaba, 2009.

RODRIGUES, N. R.. Agrotóxicos: Análises de Resíduos e Monitoramento. **MultiCiência: construindo a história de produtos naturais**. Campinas, v. 7, 2006.

SAFRA de laranja na flórida será 7,5% menor, projeta Louis Dreyfus. [S. l.]: Ruralbr, 2014. Disponível em: < <http://agricultura.ruralbr.com.br/noticia/2014/08/safra-de-laranja-da-florida-sera-7-5-menor-projeta-louis-dreyfus-4576018.html> > Acesso em: 28 ago. 2014.

SALA, J. M. Involvement of oxidative stress in chilling injury in cold-stored mandarin fruits. **Postharvest Biology and Technology**, v. 13, p. 255-161, 1998.

SALIBE, A. A. Citricultura: 500 anos. **Citricultura Atual - GCONCI**, Cordeirópolis, v. 4, n. 16, p. 14, 2000.

SALIBE, A.A. Curso de especialização em fruticultura: cultura de citros. Recife, SUDENE/UFRPe, 1977.

SANTOS, D. ; MATARAZZO, H. M.; SILVA, D. F. P.; SIQUEIRA, D. L.; SANTOS, C. M.; LUCENA, C. C. Caracterização físico-química de frutos cítricos apirênicos produzidos em Viçosa, Minas Gerais. **Revista Ceres**, Viçosa, v.57, n. 4, p. 393-400, 2010

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 38, n. 7, p. 995-1014, 2005.

SCANDALIOS, J. G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 101, p. 7-12, 1993.

SHARMA, P. et al. Reative oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stresseful conditions. **Journal of Botany**, London, 2012. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journal/jb/2012/217037/cta..>> Acesso em: 23/05/2016.

SIEGEL, B.Z. Plant peroxidases: an organism perspective. *Plant Growth Regulation*, Dordrecht, v. 12, p. 303-312, 1993.

SILVA, S. R da.; FRANCO, D.; STUCHI, E. S.; DONADIO, L. C.; SEMPIONATO, O.R.; PERECIN, D. **Qualidade e produção de frutos de laranja natal e valência em 13 porta-enxertos em Bebedouro (SP)**. Laranja, Cordeirópolis, v. 27, p. 91-100, 2006.

SINCLAIR, W.B. **The biochemistry and physiology of the lemon and other citrus fruits**. Riverside: Univ. of California, 1984. 469 p.

SINGH, K. K.; REDDY, B. S. Post-Harvest Physico-Mechanical Properties of Orange Peel and Fruit. **Journal of Food Engineering**, Cesena, v. 73, n. 2, p. 112-120, 2006.

SIRTOLI, L.F. **Fisiologia do pepineiro japonês, com e sem enxertia, tratado com fungicida boscalida**. 2010. 104f. Tese (Doutorado em Horticultura) - Faculdade de Ciências Agronomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

SORG, O. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. **Comptes Rendus Biologies**, Maryland Heights, v. 327, p. 649-662, 2004.

SOULE, I., GRIERSON, W. Anatomy and physiology. In: WARDOWSHI, W.F., NAGY, S. (Ed.) **Fresh citrus fruits**. New York: 1986. p. 1-22.

SPRICIGO, C. P. **Perdas Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças**. Disponível em: <<http://poscolheita.cnpdia.embrapa.br/perdas-pos-colheita-de-frutas-e-hortalicas>>. Acesso em: 06 ago. 2014.

TAVARES, J. T. **Estabilidade do ácido ascórbico em sucos de laranja submetidos a diferentes tratamentos**. jan/dez. 2000. Disponível em: <www.magistra.ufba.br/publica/magist12/00-12-01c.html> Acesso em 05/09/2015.

TAZIMA, Z.H.; AULER, P.A.M.; NEVES, C.S.V.J.; YADA, I.F.U.; LEITE JUNIOR, R.P. Comportamento de clones de laranja ‘Valência’ na região norte do Paraná. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 4, p. 970-974, 2008.

TEISSEIRE, H.; GUY, V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). **Plant Science**, v. 153, n. 1, p. 65-72, 2000.

TSANG, E.W.T. et al. Differential regulation of superoxide dismutases in plants exposed to environmental stress. **Plant Cell**, Waterbury, v. 3, p. 783-792, 1991.

TODISCO, K. M.; CLEMENTE, E.; ROSA, C.I.L.F. Conservação e qualidade pós-colheita de laranjas “folha murcha” armazenadas em duas temperaturas. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, Maringá, v. 5, n. 3, p. 579-591, set./dez. 2012.

TÖFOLI, J.G. Pinta preta - uma ameaça constante aos cultivos da batata e do tomate. **Revista Cultivar**, fev./mar., 2004 .

VALE, A. A. S.; SANTOS, C. D.; ABREU, C. M. P.; CORRÊA, A. D.; SANTOS, J. A. Alterações Químicas, Físicas e Físico-Químicas da Tangerina ‘Ponkan’ (*Citrus reticulata* Blanco) Durante o Armazenamento Refrigerado. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 778-786, 2006

VENÂNCIO, W. S. et al. Physiological effects of estrobilurin fungicides on plants. **Publication UEPG**, Ponta Grossa, v. 9, n. 3, p. 59-68, 2004.

VENÂNCIO, W. S. et al. **Revisão anual de patologia de plantas**. Passo fundo: RAPP, 2005. Cap 3, p. 49-73.

VIÉGAS, F. C. P. A Citricultura brasileira, 2. Ed. Campinas, Cargill, 1991.

VIEIRA, L.M. **Influência do óxido nítrico na longevidade pós-colheita de inflorescências de *Epidendrum ibaguense* Kunth**. 2013, 74f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2013.

VIEITES, R. L.; ARRUDA, M. C. de; GODOY, L. J. G. de. Utilização de cera e película de fécula no armazenamento da laranja pêra sob refrigeração. **Semina: Ci. Agr.**, Londrina, v. 17, n. 1, p. 83-88, mar.1996.

VOLPE, C. A.; SCJOFFEL, E. R.; BARBOSA, J. C. Influencia da soma térmica e da chuva durante o desenvolvimento de laranjas-‘Valência’ e ‘Natal’ na relação entre sólidos solúveis e acidez e no índice tecnológico de suco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 432-441, ago. 2002.

WANG, C. Y.; Chilling injury of tropical horticultural commodities. **Hortscience**, v.29, n.9, p.986-988, 1994.

WILLS, R.; McGLASSON, B.; GRAHAM, D.; JOYCE, D. **Introducción a la fisiología y manipulación poscosecha de frutas, hortalizas y plantas ornamentales**. Trad. De J.B. Gonzáles. 2nd. Ed. Zaragoza: Acribia, 1998. 240p.

WILLS, R.H.H.; LEE, T.H; GRAHAM, W.B.; HALL, E.G. **Postharvest na introduction to the physiology and handling of fruint and vegetables**. Kensington: New South Wales Ulniversity Press, 1981. 161p.

WISE, K., MUELLER, D. Are funfungicides no longer just for fungi? An analys of foliar fungicide use in corn. **APSnet Features**, DOI: 10.1094/ APSnetFeatures- 2011-0531.

WRZACZEK, M.; BROSCHE, M.; KANGASJÄRVI, J. ROS signaling loops — production, perception, regulation. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 16, n. 5, p. 575-582, 2013.

YPEMA, H. L.; GOLD, R. E. Kresoxym-methyl modification of a naturally occurring compound to produce a new fungicide. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 83, n. 1, p. 4-19, 1999.

Anexo I



**GLOBAL ENVIRONMENTAL AND CONSUMER
SAFETY LABORATORY**

LAUDO DE ANÁLISE DE RESÍDUOS

Código do Estudo

771564

Número de Arquivamento GENCS

2645-15

**ANÁLISE DO ESTUDO DE RESÍDUOS DE PYRACLOSTROBIN E SEU METABÓLITO 500M07
EM AMOSTRAS DE LARANJA NATAL (FRUTOS) EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE
ARMAZENAMENTO (AMBIENTE E REFRIGERADO) NO ANO DE 2015, APÓS
TRATAMENTO COM COMET®, EM CONDIÇÕES DE CAMPO NO BRASIL.**

Autores

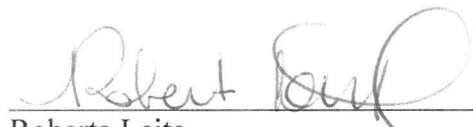
Roberta Leite
Evelyn Costa

Data

19/06/2015

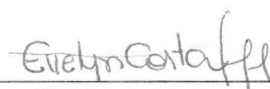
BASF S.A.
Global Environmental and Consumer Safety Laboratory - GENCS
Avenida Brasil, 791, C10/C20 – Engenheiro Neiva
Guaratinguetá – São Paulo – Brasil
CEP: 12521-900
Phone: 55-12-3128-1804
Fax: 55-12-3128-1805

IDENTIFICAÇÃO E ASSINATURAS DO PESSOAL RESPONSÁVEL ENVOLVIDO NO ESTUDO



Roberta Leite
Gerente de Laboratório de Resíduos

19 / 06 / 2015
dd mm aaaa



Evelyn Costa
Analista

19 / 06 / 2015
dd mm aaaa

RESUMO

O presente laudo contém os resultados de resíduos do projeto de pesquisa para avaliação dos efeitos de Pyraclostrobin e seu metabólito 500M07, em frutos de laranja natal com diferentes tratamentos e aplicações (pré e pós-colheita) em condições de armazenamento ambiente e refrigerada.

O experimento foi instalado na Fazenda Santa Rosa, localizada no município de Avaré/SP e os frutos foram submetidos a diferentes doses e aplicações do fungicida Comet®, o qual possui como ingrediente ativo o Pyraclostrobin. Após a colheita, os frutos foram armazenados em condições ambientes e refrigeradas em Avaré/SP e Botucatu/SP.

Os tratamentos utilizados e o cronograma de coleta de amostras estão descritos nas tabelas I e II respectivamente.

Tabela I: Detalhamento Tratamentos

Tipo	Tratamento	Aplicação
T1	Testemunha	Não foi aplicado nenhum produto
T2	Padrão de Mercado	Tratamento convencional (aplicação pós-colheita do produto Imazalil, na dose comercial recomendada em bula, diluído em cera)
T3	Comet D1 (10mL/100L água) em pré-colheita	Aplicação feita 20 e 10 dias antes da colheita
T4	Comet D1 (10mL/100L água) em pré-colheita + pós colheita	Aplicação feita 20 e 10 dias antes da colheita + pós-colheita
T5	Comet D1 (0,010mL/L cera) pós-colheita	Pós-colheita
T6	Comet pré-colheita	Aplicação feita 20 e 10 dias antes da colheita
T7	Comet D2 pré - pós colheita	Aplicação feita 20 e 10 dias antes da colheita + pós colheita
T8	Comet D2 (0,015mL/L cera) pós colheita	Pós-colheita

Tabela II : Cronograma de atividade para coleta de amostras para análise de resíduo

Armazenamento	Aplicação no campo	Colheita	1ª coleta de amostras	2ª coleta de amostras armazenadas após colheita	3ª coleta de amostras armazenadas após colheita	4ª coleta de amostras armazenadas após colheita
Ambiente	09/01/2015 e 19/01/2015	29/01/2015	Colheita	07 dias após a colheita	14 dias após a colheita	21 dias após a colheita
Refrigerado	09/01/2015 e 19/01/2015	29/01/2015	Colheita	12 dias após a colheita	24 dias após a colheita	36 dias após a colheita

O método analítico utilizado para análise, foi o método L0076/09, sendo a determinação dos resíduos realizada por cromatografia líquida, detector de massas/massas (LC/MS/MS) e padronização externa. Os cálculos dos resíduos foram realizados a partir da curva de calibração em que foram injetadas as amostras em estudo. O limite de quantificação (LOQ) do método é de 0,01 mg/kg. O limite de detecção (LOD) do método é equivalente a 20% do limite de quantificação (0.002 mg/kg).

A eficiência do método foi verificada fortificando a amostra testemunha nos níveis de 0,01 mg/kg e 1,00 mg/kg. A média dos valores de recuperação obtidos para as amostras fortificadas com Pyraclostrobin no nível de fortificação 0,01 mg/kg foi de 104%. Para as amostras fortificadas com Pyraclostrobin no nível 1,00 mg/kg foi igual a 97,9%.

A média dos valores de recuperação obtidos para as amostras fortificadas com 500M07 no nível de fortificação 0,01 mg/kg foi de 103%. E para as amostras fortificadas com 500M07 no nível 1,00 mg/kg foi igual a 103%.

RECEBIMENTO E PREPARO DAS AMOSTRAS DE SISTEMA TESTE

As amostras brutas coletadas foram encaminhadas para a BASF S.A – GENCS embalados em sacos plásticos e acondicionados em caixa de isopor com gelo seco.

Após a chegada das amostras ao laboratório estas foram armazenadas na câmara fria em lugar específico para esse fim, onde permaneceram em temperatura igual ou inferior a -20°C até seu preparo.

O preparo foi realizado homogeneizando as amostras com gelo seco em equipamento adequado, misturando-se bem todas as partes representativas. Após preparo, as mesmas são rotuladas e estocadas em Câmara Fria (temperatura operacional de -20°C ou inferior). O resíduo será expresso com base na amostra.

Tabela III: Cronograma de recebimento e preparo de amostras (ambiente)

Identificação da amostra	Tratamento	Identificação das amostras (GENCS)	Data do Recebimento	Data do Preparo
Testemunha	-	G1500800001	10/03/2015	01-10/04/2015
Colheita	T3	G1500790001	10/03/2015	01-10/04/2015
Colheita	T4	G1500790002	10/03/2015	01-10/04/2015
Colheita	T6	G1500790003	10/03/2015	01-10/04/2015
Colheita	T7	G1500790004	10/03/2015	01-10/04/2015
1º Coleta Ambiente	T2	G1500760001	10/03/2015	01-10/04/2015
1º Coleta Ambiente	T3	G1500760002	10/03/2015	01-10/04/2015
1º Coleta Ambiente	T4	G1500760003	10/03/2015	01-10/04/2015
1º Coleta Ambiente	T5	G1500760004	10/03/2015	01-10/04/2015
1º Coleta Ambiente	T6	G1500760005	10/03/2015	01-10/04/2015
1º Coleta Ambiente	T7	G1500760006	10/03/2015	01-10/04/2015
1º Coleta Ambiente	T8	G1500760007	10/03/2015	01-10/04/2015
2º Coleta Ambiente	T2	G1500780001	10/03/2015	01-10/04/2015
2º Coleta Ambiente	T3	G1500780002	10/03/2015	01-10/04/2015
2º Coleta Ambiente	T4	G1500780003	10/03/2015	01-10/04/2015
2º Coleta Ambiente	T5	G1500780004	10/03/2015	01-10/04/2015
2º Coleta Ambiente	T6	G1500780005	10/03/2015	01-10/04/2015
2º Coleta Ambiente	T7	G1500780006	10/03/2015	01-10/04/2015
2º Coleta Ambiente	T8	G1500780007	10/03/2015	01-10/04/2015
3º Coleta Ambiente	T2	G1500830001	02/04/2015	27-30/04/2015
3º Coleta Ambiente	T3	G1500830002	02/04/2015	27-30/04/2015
3º Coleta Ambiente	T4	G1500830003	02/04/2015	27-30/04/2015
3º Coleta Ambiente	T5	G1500830004	02/04/2015	27-30/04/2015
3º Coleta Ambiente	T6	G1500830005	02/04/2015	27-30/04/2015
3º Coleta Ambiente	T7	G1500830006	02/04/2015	27-30/04/2015
3º Coleta Ambiente	T8	G1500830007	02/04/2015	27-30/04/2015

Tabela IV: Cronograma de recebimento e preparo de amostras (refrigerado)

Identificação da amostra	Tratamento	Identificação das amostras (GENCS)	Data do Recebimento	Data do Preparo
1º Coleta Refrigerada	T2	G150810001	02/04/2015	27-30/04/2015
1º Coleta Refrigerada	T3	G150810002	02/04/2015	27-30/04/2015
1º Coleta Refrigerada	T4	G150810003	02/04/2015	27-30/04/2015
1º Coleta Refrigerada	T5	G150810004	02/04/2015	27-30/04/2015
1º Coleta Refrigerada	T6	G150810005	02/04/2015	27-30/04/2015
1º Coleta Refrigerada	T7	G150810006	02/04/2015	27-30/04/2015
1º Coleta Refrigerada	T8	G150810007	02/04/2015	27-30/04/2015
2º Coleta Refrigerada	T2	G150820001	02/04/2015	27-30/04/2015
2º Coleta Refrigerada	T3	G150820002	02/04/2015	27-30/04/2015
2º Coleta Refrigerada	T4	G150820003	02/04/2015	27-30/04/2015
2º Coleta Refrigerada	T5	G150820004	02/04/2015	27-30/04/2015
2º Coleta Refrigerada	T6	G150820005	02/04/2015	27-30/04/2015
2º Coleta Refrigerada	T7	G150820006	02/04/2015	27-30/04/2015
2º Coleta Refrigerada	T8	G150820007	02/04/2015	27-30/04/2015
3º Coleta Refrigerada	T2	G1500770001	02/04/2015	27-30/04/2015
3º Coleta Refrigerada	T3	G1500770002	10/03/2015	01-10/04/2015
3º Coleta Refrigerada	T4	G1500770003	10/03/2015	01-10/04/2015
3º Coleta Refrigerada	T5	G1500770004	10/03/2015	01-10/04/2015
3º Coleta Refrigerada	T6	G1500770005	10/03/2015	01-10/04/2015
3º Coleta Refrigerada	T7	G1500770006	10/03/2015	01-10/04/2015
3º Coleta Refrigerada	T8	G1500770007	10/03/2015	01-10/04/2015

Nota: As datas informadas contemplam o preparo das amostras, dissipação do gelo seco e armazenamento nos recipientes plásticos devidamente identificados.

PROCEDIMENTO ANALÍTICO

As amostras analisadas foram retiradas do local de estoque apenas no início da rota analítica e retornadas ao local originário após a etapa de pesagem.

Fortificação

Os níveis de fortificação de 0,01 e 1,00 mg/kg foram usados para determinar as recuperações das amostras testemunhas fortificadas com Pyraclostrobin e 500M07 no grupo de análise.

Princípio do método (todas as amostras)

Os resíduos de pyraclostrobin e seu metabolito 500M07 são extraídos com metanol / água / HCl 2 mol / L (70/25/5, v / v / v). O extrato é centrifugado e uma alíquota é transferida para partição com solução 0,2 mol de NaOH e ciclohexano. Uma alíquota da fase orgânica é evaporada até a secura e dissolvida em solução de metanol / água (50/50, v / v) para ser injetada no sistema Cromatográfico (LC/MS/MS).

RESULTADOS

Os resultados encontrados nas amostras tratadas não são corrigidos pelos resultados obtidos nas recuperações de amostras fortificadas. Os resíduos encontrados nas amostras são apresentados nas tabelas abaixo.

Tabela V : Resultados (Testemunha e Colheita)

Tratamento	Identificação	Local do Armazenamento	Tempo de armazenamento após colheita	Resíduos de Pyraclostrobin (mg/kg)	Resíduos de 500M07 convertidos (mg/kg)	Pyraclostrobin Total (mg/kg)
T1	Testemunha	Avaré/2015	-	<0,002	<0,002	<0,01
T3	Colheita	Avaré/2015	0	0,021	<0,01	<0,031
T4	Colheita	Avaré/2015	0	0,029	<0,01	<0,039
T6	Colheita	Avaré/2015	0	0,028	<0,01	<0,038
T7	Colheita	Avaré/2015	0	0,036	<0,01	<0,046

Tabela VI : Resultados (Armazenamento Ambiente)

Tratamento	Identificação	Local do Armazenamento	Tempo de armazenamento após colheita	Resíduos de Pyraclostrobin (mg/kg)	Resíduos de 500M07 convertidos (mg/kg)	Pyraclostrobin Total (mg/kg)
T2	1º Coleta Ambiente	Avaré/2015	7 dias	<0,01	<0,002	<0,012
T3	1º Coleta Ambiente	Avaré/2015	7 dias	0,016	<0,01	<0,026
T4	1º Coleta Ambiente	Avaré/2015	7 dias	0,023	<0,01	<0,033
T5	1º Coleta Ambiente	Avaré/2015	7 dias	<0,01	<0,002	<0,012
T6	1º Coleta Ambiente	Avaré/2015	7 dias	0,031	<0,01	<0,041
T7	1º Coleta Ambiente	Avaré/2015	7 dias	0,033	<0,01	<0,043
T8	1º Coleta Ambiente	Avaré/2015	7 dias	0,017	<0,002	<0,019
T2	2º Coleta Ambiente	Avaré/2015	14 dias	0,021	<0,002	<0,023
T3	2º Coleta Ambiente	Avaré/2015	14 dias	<0,01	<0,002	<0,012
T4	2º Coleta Ambiente	Avaré/2015	14 dias	0,022	<0,01	<0,032
T5	2º Coleta Ambiente	Avaré/2015	14 dias	0,051	<0,01	<0,061
T6	2º Coleta Ambiente	Avaré/2015	14 dias	<0,01	<0,002	<0,012
T7	2º Coleta Ambiente	Avaré/2015	14 dias	<0,01	<0,002	<0,012
T8	2º Coleta Ambiente	Avaré/2015	14 dias	0,018	<0,01	<0,028
T2	3º Coleta Ambiente	Botucatu/2015	21 dias	0,012	<0,002	<0,014
T3	3º Coleta Ambiente	Botucatu/2015	21 dias	0,027	<0,01	<0,037
T4	3º Coleta Ambiente	Botucatu/2015	21 dias	0,031	<0,01	<0,041
T5	3º Coleta Ambiente	Botucatu/2015	21 dias	<0,01	<0,002	<0,012
T6	3º Coleta Ambiente	Botucatu/2015	21 dias	0,033	<0,01	<0,043
T7	3º Coleta Ambiente	Botucatu/2015	21 dias	0,043	<0,01	<0,053
T8	3º Coleta Ambiente	Botucatu/2015	21 dias	0,021	<0,002	<0,023

Nota: 1) O valor encontrado de resíduo para Pyraclostrobin Total é equivalente a soma de Pyraclostrobin e seu metabólito 500M07 convertido. Dessa forma tem-se que: Resíduos de Pyraclostrobin Total = Σ [Resíduos Pyraclostrobin+ (resíduos 500M07 * 1.08)]

2) A transição de massa utilizada para quantificação de Pyraclostrobin foi a 388/194 e para 500M07 foi utilizada a 358/164.

Tabela VII : Resultados (Armazenamento Refrigerado)

Tratamento	Identificação	Local Armazenamento	Data da Coleta	Tempo de armazenamento após colheita	Resíduos de Pyraclostrobin (mg/kg)	Resíduos de 500M07 convertidos (mg/kg)	Pyraclostrobin Total (mg/kg)
T2	1º Coleta Refrigerado	Botucatu/2015	09/02/2015	12 dias	<0,01	<0,002	<0,012
T3	1º Coleta Refrigerado	Botucatu/2015	09/02/2015	12 dias	0,024	<0,01	<0,034
T4	1º Coleta Refrigerado	Botucatu/2015	09/02/2015	12 dias	0,023	<0,01	<0,033
T5	1º Coleta Refrigerado	Botucatu/2015	09/02/2015	12 dias	<0,01	<0,002	<0,012
T6	1º Coleta Refrigerado	Botucatu/2015	09/02/2015	12 dias	0,030	<0,01	<0,040
T7	1º Coleta Refrigerado	Botucatu/2015	09/02/2015	12 dias	0,041	<0,01	<0,051
T8	1º Coleta Refrigerado	Botucatu/2015	09/02/2015	12 dias	<0,01	<0,002	<0,012
T2	2º Coleta Refrigerado	Botucatu/2015	25/02/2015	24 dias	<0,01	<0,002	<0,012
T3	2º Coleta Refrigerado	Botucatu/2015	25/02/2015	24 dias	0,019	<0,01	<0,029
T4	2º Coleta Refrigerado	Botucatu/2015	25/02/2015	24 dias	0,032	<0,01	<0,042
T5	2º Coleta Refrigerado	Botucatu/2015	25/02/2015	24 dias	<0,01	<0,002	<0,012
T6	2º Coleta Refrigerado	Botucatu/2015	25/02/2015	24 dias	0,028	<0,01	<0,038
T7	2º Coleta Refrigerado	Botucatu/2015	25/02/2015	24 dias	0,043	<0,01	<0,053
T8	2º Coleta Refrigerado	Botucatu/2015	25/02/2015	24 dias	0,012	<0,002	<0,014
T2	3º Coleta Refrigerado	Avaré/2015	09/03/2015	36 dias	<0,01	<0,002	<0,012
T3	3º Coleta Refrigerado	Avaré/2015	09/03/2015	36 dias	0,020	<0,01	<0,030
T4	3º Coleta Refrigerado	Avaré/2015	09/03/2015	36 dias	0,023	<0,01	<0,033
T5	3º Coleta Refrigerado	Avaré/2015	09/03/2015	36 dias	<0,01	<0,002	<0,012
T6	3º Coleta Refrigerado	Avaré/2015	09/03/2015	36 dias	0,024	<0,01	<0,034
T7	3º Coleta Refrigerado	Avaré/2015	09/03/2015	36 dias	0,041	<0,01	<0,051
T8	3º Coleta Refrigerado	Avaré/2015	09/03/2015	36 dias	0,011	<0,002	<0,013

Nota: 1) O valor encontrado de resíduo para Pyraclostrobin Total é equivalente a soma de Pyraclostrobin e seu metabólito 500M07 convertido. Dessa forma tem-se que: Resíduos de Pyraclostrobin Total = Σ [Resíduos Pyraclostrobin+ (resíduos 500M07 * 1.08)]

2) A transição de massa utilizada para quantificação de Pyraclostrobin foi a 388/194 e para 500M07 foi utilizada a 358/164.

DISCUSSÕES E CONCLUSÃO

Para todos os tratamentos observou-se que os resultados obtidos para as análises de resíduos de Pyraclostrobin total em frutos de laranja natal estão abaixo do LMR (Limite Máximo de Resíduo) descrito na monografia de Pyraclostrobin, sendo este valor equivalente a 0,5 mg/kg.

REFERÊNCIAS

BASF Method L0076/09 for the determination of BAS 421 F, BAS 480 F, BAS 500 F, 500M07 (BF 500-3), BAS 510 F, BAS 550 F, BAS 555 F BAS 560 F and BAS 750 F in plant matrices by LC-MS/MS

Monografia da Anvisa:

<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/068e228046da0d759103fd2e64280806/P46++Piraclostrobina.pdf?MOD=AJPERES>

